

UNIVERSIDAD DE A CORUÑA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

DETERMINACIÓN DE METALES FORMADORES DE
VAPOR MEDIANTE GENERACIÓN DE HIDRUROS
ACOPLADA A ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN Y
FLUORESCENCIA ATÓMICA

Carmen M^a Moscoso Pérez

A Coruña, 2003



DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

**DETERMINACIÓN DE METALES FORMADORES DE VAPOR
MEDIANTE GENERACIÓN DE HIDRUROS ACOPLADA A
ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN Y FLUORESCENCIA ATÓMICA**

Memoria presentada por
Dña. Carmen M^a Moscoso Pérez
para optar al
Grado de Doctora en Química

A Coruña, enero de 2003



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

Campus da Zapateira, s/n.
15071 A Coruña
España - Spain
Teléfono 981 16 70 00
Fax 981 16 70 65

Dra. Dña. SOLEDAD MUNIATEGUI LORENZO, Profesora Titular y Directora
del Departamento de Química Analítica de la Universidad de A Coruña,

AUTORIZA a Dña. CARMEN M^a MOSCOSO PÉREZ a presentar el trabajo titulado
“DETERMINACIÓN DE METALES FORMADORES DE VAPOR MEDIANTE GENERACIÓN DE
HIDRUROS ACOPLADA A ESPECTROSCOPÍA DE ABSORCIÓN Y FLUORESCENCIA
ATÓMICA” para optar al grado de Doctora en Química.



A Coruña, enero de 2003

Dra. Dña. Soledad Muniategui Lorenzo



DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

Campus da Zapateira, s/n.
15071 A Coruña
España - Spain
Teléfono 981 16 70 00
Fax 981 16 70 65

Dr. D. DARÍO PRADA RODRÍGUEZ, Catedrático de Química Analítica, **Dra. Dña. ESTHER FERNÁNDEZ FERNÁNDEZ**, Catedrática de Escuela Universitaria y **Dr. D. JORGE MOREDA PIÑEIRO**, Profesor Ayudante del Departamento de Química Analítica de la Universidad de A Coruña,

CERTIFICAN

Que la presente Tesis Doctoral titulada “DETERMINACIÓN DE METALES FORMADORES DE VAPOR MEDIANTE GENERACIÓN DE HIDRUROS ACOPLADA A ESPECTROSCOPÍA DE ABSORCIÓN Y FLUORESCENCIA ATÓMICA”, se ha realizado bajo su dirección en el Departamento de Química Analítica de la Universidad de A Coruña.

Y para que así conste, a los efectos oportunos, firman la presente en A Coruña, enero de 2003.


Dr. D. Darío Prada Rodríguez


Dra. Dña. Esther Fernández Fernández


Dr. D. Jorge Moreda Piñeiro

AGRADECIMIENTOS

Esta memoria que tienes entre tus manos, es el fruto de varios años de aprendizaje y trabajo para intentar sacar adelante un proyecto ilusionante que comenzó un mes de marzo de 1999. Sin dudarlo, esta tesis no hubiese sido posible sin la ayuda de muchas personas a las que en este momento quiero expresar mi agradecimiento.

Al Departamento de Química Analítica de la Universidad de A Coruña por permitirme realizar este trabajo.

Durante la realización de esta Tesis Doctoral he disfrutado, en diferentes momentos, de un contrato de colaboración en el Proyecto FEDER 1 FD 1997-0062, de una beca MAPFRE y de una beca concedida por COETICOR (Colegio de Ingenieros Técnicos Industriales de A Coruña). A todos estos organismos, gracias por su ayuda.

A mis directores, Dr. D. Darío Prada Rodríguez, Dra. Dña. Esther Fernández Fernández y Dr. D. Jorge Moreda Piñeiro por su orientación, apoyo y ayuda.

A Darío, por sacar tiempo de donde no lo tiene y estar siempre pendiente de todos. Gracias por tus buenos consejos siempre en el momento oportuno.

A Esther, por su incondicional apoyo desde el principio, sus palabras de ánimo cuando las necesitaba y por contagiarnos a todos cada mañana con su energía y buen humor.

Muchas gracias Jorge, por la confianza que has demostrado tener en mi, tu paciencia y sobre todo por tu amistad.

Quiero dar las gracias a todos los profes y compañeros del departamento por todo el apoyo recibido en estos años. Intentaré que quede reflejado en pocas palabras y no olvidarme de ninguno:

Gracias a Sol, Puri, Elisa, Alatzne, Elia, Elena, Esther V., Rosa, Isa, Mariajo y Andrade por haberme ayudado siempre que lo necesité, por estar pendientes de mis cosas y escucharme. A Maribel, por tener siempre una palabra de ánimo y por los momentos de conversación que hemos tenido en los que siempre he aprendido algo.

A Chus, para mi mucho más que una compañera de trabajo, por su amistad, ayuda y por los buenos momentos que hemos compartido y, espero, sigamos compartiendo.

Gracias Fany, aunque estoy algo enfadada por haberme abandonado en la dura tarea de ponernos en forma, te doy millones de gracias por ser como eres, por tu sinceridad, por tu alegría y por haberme hecho confidente de tus problemas y de tus alegrías, en definitiva, por ser una gran amiga (y que se entere todo el mundo que sí sabes guardar un secreto).

Gracias a Vero y Gerardo por estar siempre pendiente de mi, especialmente a Vero por su ayuda con las correcciones. A Vila, por su compañía durante todo este tiempo, sobre todo cuando ejercíamos de oyentes-tertulianos por esas carreteras de Dios que nos llevaban a As Pontes. A María, mi gran compañera de Master, por su ayuda con el "particulate matter" y por tener siempre un hueco para hacer una llamadita y preocuparse por la tesis.

Gracias a Mónica, Merce y Gloria, por su amistad, ayuda, su alegría y por los buenos ratos que pasamos juntas a la hora de la comida (aunque parte de la culpa de la maravillosa locura que es la comida se lo debamos también a Elisa y Mariajo). A Vero peque, una persona con un gran corazón, por todo el cariño que me da y por el regalo que me hace todas las mañanas: su gran sonrisa. No cambies nunca.

A M^a Paz, simplemente por su "Hola Carmen, ¿Qué tal todo?". A Pilar por su buen humor, sus canciones y por compartir conmigo las penas y alegrías del Aanalyst 800. A Diego, mi compañero de silla en la sala de ordenadores por su ayuda, A Deby, por hacer caer un mito. Gracias a Isa G. y a Sonia, también sufridoras del Químico-Biológico; a Gustavo por sus frases míticas para enmarcar, a M^a José y Ramón, ánimo con el fluorescencia.

Por el departamento ha pasado mucha gente con la que he coincidido y ya no está, pero que quiero recordar: Maica, Ágata, Miguel, Manuela, Izaskun, Gigi, Ana V., José Manuel, Marisa y Mariví. Un recuerdo también para mis compañeros del Master, especialmente a Loreto, Marta y Cristina.

Pese a que ya no nos vemos tan a menudo, no me puedo olvidar de mis amigas “picholeiras”: Tere, Pili, María, Merce y Maripi.

A Jose, un amigo siempre dispuesto a organizar comidas, viajes...a los que me apunto encantada.

Le toca el turno a la familia, aunque es imposible agradecer tanto en tan pocas líneas, pero lo intentaré:

Gracias a mis tíos (especialmente a Tomás por toda su ayuda informática) y a mis primos, sobre todo a Brais y Bastian, siempre preguntando ¿Qué es eso de la tesis? ¿Cuando la terminas? ¿Cuántas hojas llevas escritas?.

Especialmente quiero agradecer a mis abuelos todo el cariño que me han dado siempre. Habeis vivido esta tesis muy de cerca, aquí teneis el resultado, gran parte gracias a vosotros.

Millones de gracias a mis padres y a mi hermana por haberme dado y seguir dándome todo, por vuestro cariño, comprensión, apoyo en los momentos buenos y en los no tan buenos. Espero que os sintais la mitad de orgullosos de lo que yo lo estoy de vosotros.

Por último, quiero dar las gracias a una persona que lleva siete maravillosos años a mi lado, apoyándose en todo, dándome su cariño, haciéndome reír, aguantando mis agobios y malos humores con infinita paciencia y muchas dosis de humor. Gracias Javi, por quererme de esta forma (y tranquilo, que no me olvido de agradecerte el haberme acompañado en alguno de los muestreos de esta tesis).

1. OBJETIVOS	1
2. INTRODUCCIÓN	5
1. IMPORTANCIA DE LA DETERMINACIÓN DE METALES EN DISTINTAS MUESTRAS MEDIOAMBIENTALES	9
1.1. Agua de mar	10
1.2. Agua termal	12
1.3. Materias primas y productos de centrales térmicas.....	17
1.3.1. Características del carbón.....	18
1.3.2. Elementos traza en el carbón y su comportamiento durante la combustión	19
1.4. Material particulado atmosférico.....	22
2. TOXICIDAD	24
3. LEGISLACIÓN.....	28
3.1. Aguas continentales	29
3.2. Contaminación marina	30
3.3. Contaminación atmosférica.....	30
4. BIBLIOGRAFÍA	33
3. DETERMINACIÓN DE As, Bi Y Ge MEDIANTE HG-ETAAS	37
1. INTRODUCCIÓN	41
1.1. Técnicas de generación de vapor acoplado a AAS	42
1.1.1. Generación de hidruros.....	43
1.1.2. Generación de vapor frío.....	49
1.1.3. Otras técnicas de generación de vapor	49
1.2. Métodos de determinación de As, Bi y Ge mediante HG-ETAAS	50
2. MATERIAL, INSTRUMENTAL Y REACTIVOS.....	55
3. OPTIMIZACIÓN DE LOS MÉTODOS DE HG ACOPLADOS A ETAAS	59
3.1. Introducción	59
3.1.1. Diseños de experiencias en Química Analítica	59
3.1.2. Diseños factoriales	62
3.1.3. Diseños factoriales de Plackett-Burman.....	64
3.2. Identificación de las variables significativas	67
3.3. Optimización de las variables significativas	82

3.4. Características analíticas de los métodos	92
3.4.1. Rectas de calibrado y adición	93
3.4.2. Límites de detección, cuantificación y masas características	97
3.4.3. Precisión	99
3.4.4. Exactitud.....	102
4. RECUBRIMIENTOS DE TUBOS DE GRAFITO EN ETAAS	105
4.1. Temperaturas de atrapamiento y atomización. Tiempos de atrapamiento.....	107
4.1.1. Hidruro de As	108
4.1.2. Hidruro de Bi.....	118
4.1.3. Hidruro de Ge	124
4.2. Perfiles de absorbancia	128
4.3. Características analíticas de los métodos	131
4.3.1. Rectas de calibrado y adición	131
4.3.2. Límites de detección, cuantificación y masas características	142
4.3.3. Precisión	145
4.3.4. Exactitud.....	152
4.3.5. Elección de los recubrimientos.....	155
5. BIBLIOGRAFÍA.....	156
 4. DETERMINACIÓN DE As, Bi, Sb, Se Y Te MEDIANTE HG-AFS.....	163
1. INTRODUCCIÓN.....	167
1.1. Métodos de determinación de As, Bi, Sb, Se y Te mediante HG-AFS.....	168
2. MATERIAL, INSTRUMENTAL Y REACTIVOS	174
2.1. Material e instrumental	174
2.2. Reactivos	174
3. OPTIMIZACIÓN DE MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE As INORGÁNICO TOTAL, Bi, Sb(III), Se(IV) Y Te.....	176
3.1. Identificación de las variables significativas.....	178
3.2. Optimización de las variables significativas	189
3.3. Características analíticas de los métodos	207
3.3.1. Rectas de calibrado y adición	207
3.3.2. Límites de detección y cuantificación.....	213
3.3.3. Precisión	213
3.3.4. Exactitud.....	215

4. OPTIMIZACIÓN DE UN MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE As(III)	219
4.1. Identificación y optimización de las variables significativas.....	220
4.2. Características analíticas del método	229
5. OPTIMIZACIÓN DE MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE As Y Sb INORGÁNICO TOTAL UTILIZANDO AGENTES REDUCTORES.....	233
5.1. Determinación de As inorgánico total	233
5.1.1. Identificación y optimización de las variables significativas	236
5.1.2. Características analíticas del método.....	244
5.2. Determinación de Sb inorgánico total.....	247
5.2.1. Identificación y optimización de las variables significativas	248
5.2.2. Características analíticas de los métodos	254
6. BIBLIOGRAFÍA	258
 5. APLICACIÓN DE LOS MÉTODOS DESARROLLADOS A MUESTRAS DE INTERÉS AMBIENTAL	265
1. MATERIAL, INSTRUMENTAL Y REACTIVOS.....	269
1.1. Material e instrumental.....	269
1.2. Reactivos.....	270
2. APLICACIÓN A MUESTRAS LÍQUIDAS.....	271
2.1. Toma de muestra y conservación.....	273
2.2. Determinación mediante HG-ETAAS	275
2.3. Determinación mediante HG-AFS.....	278
3. APLICACIÓN A MUESTRAS SÓLIDAS	282
3.1. Toma de muestra y conservación.....	284
3.2. Extracción ácida de las muestras sólidas.....	285
3.3. Determinación mediante HG-ETAAS	286
3.4. Determinación mediante HG-AFS.....	292
4. APLICACIÓN A MUESTRAS DE PARTICULADO ATMOSFÉRICO EN AMBIENTE INTERIOR.....	301
4.1. Toma de muestra	302
4.2. Resultados	305
5. BIBLIOGRAFÍA	310

6. ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS MÉTODOS DE ANÁLISIS PROPUESTOS .	313
1. ANÁLISIS DE MATERIALES DE REFERENCIA.....	317
2. ANÁLISIS DE MUESTRAS	321
7. CONCLUSIONES Y LÍNEAS FUTURAS	331
1. CONCLUSIONES.....	335
2. LÍNEAS FUTURAS	337

Índice de Abreviaturas

AAS	Espectroscopía de absorción atómica
AES	Espectroscopía de emisión atómica
AFS	Espectroscopía de fluorescencia atómica
BOE	Boletín oficial del estado
BOJA	Boletín oficial de la Junta de Andalucía
CV	Vapor frío
DOCE	Diario oficial de la Comunidad Europea
DOGC	Diario oficial de la Generalitat de Cataluña
FIA	Análisis de inyección en flujo
GC	Cromatografía de gases
GC-AFS	Cromatografía de gases acoplada a espectroscopía de fluorescencia atómica
HG	Generación de hidruros
HG-AAS	Generación de hidruros acoplada a espectroscopía de absorción atómica
HG-AFS	Generación de hidruros acoplada a espectroscopía de fluorescencia atómica
HG-ETAAS	Generación de hidruros acoplada a espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
ICP-MS	Espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado
INSHT	Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo
LC-AFS	Cromatografía líquida acoplada a espectroscopía de fluorescencia atómica
LOD	Límite de detección
LOQ	Límite de cuantificación
PTFE	Politetrafluoretileno
RSD	Desviación estándar relativa
VG-AAS	Generación de vapor acoplada a espectroscopía de absorción atómica
VG-ETAAS	Generación de vapor acoplada a espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica
VLA	Valor límite ambiental

Capítulo 1

Objetivos

Esta tesis doctoral se engloba dentro de una de las líneas de investigación del Departamento de Química Analítica de la Universidad de A Coruña, relacionada con la puesta a punto de métodos analíticos para la determinación de metales en diferentes muestras de interés ambiental.

El primer objetivo de este trabajo es el desarrollo de métodos analíticos para la determinación de arsénico inorgánico (As(III) y As inorgánico total), Bi y Ge en diversas muestras mediante la técnica de generación de hidruros acoplada a espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica (HG-ETAAS).

Las variables químicas que afectan a la generación del hidruro serán optimizadas mediante un diseño de experiencias Plackett-Burman como procedimiento exploratorio y diseños factoriales (diseño composicional) como método de optimización. Los métodos serán validados mediante el análisis de distintos materiales de referencia y se calcularán sus características analíticas.

Se llevará a cabo un estudio comparativo de distintos recubrimientos permanentes (Ir, Zr, U, La, Nb, W, BeO, Cr₂O₃, Cr₃C₂, TaC, VC y Ta) para la preconcentración y atomización en tubos de grafito de los hidruros de As, Bi y Ge generados, con el fin de elegir el recubrimiento adecuado para cada metal. Los resultados obtenidos se compararán con la utilización de tubos de grafito no recubiertos con especies refractarias.

Un segundo objetivo propuesto, consiste en el desarrollo de métodos analíticos para la determinación de As, Bi, Sb, Se(IV) y Te en muestras medioambientales mediante la técnica de generación de hidruros acoplada a espectroscopía de fluorescencia atómica (HG-AFS) utilizando un espectrofotómetro de fluorescencia atómica Millenium Excalibur PSA 10.055. La optimización de dichos métodos se llevará a cabo utilizando diseños factoriales de Plackett-Burman y diseños centrados. Los métodos serán validados mediante el análisis de distintos materiales de referencia y se calcularán sus características analíticas.

Se desarrollará un método de determinación de As(III) mediante generación selectiva de esta especie utilizando concentraciones moderadas del medio ácido y del medio reductor.

Además, se desarrollarán métodos de determinación de arsénico inorgánico total y antimonio inorgánico total que implican el uso de agentes reductores (KI) previa a la etapa de generación con borohidruro sódico. En el caso del As, se compararán los dos métodos propuestos para la determinación de arsénico inorgánico total con el objetivo de seleccionar el más adecuado para el análisis de muestras. Todos los métodos serán validados mediante materiales de referencia.

Debido a la toxicidad de los distintos metales estudiados y a su importancia medioambiental, los métodos desarrollados mediante HG-ETAAS y HG-AFS serán aplicados a diferentes matrices medioambientales, materias primas y productos de combustión de centrales térmicas, así como a muestras de partículado atmosférico interior.

Por último, se realizará un estudio comparativo de los métodos analíticos propuestos, analizando para ello distintas muestras y materiales de referencia. Se evaluarán las ventajas e inconvenientes de ambos procedimientos con el objetivo de seleccionar el método de análisis más adecuado.

Capítulo 2

Introducción

1. IMPORTANCIA DE LA DETERMINACIÓN DE METALES EN DISTINTAS MUESTRAS MEDIOAMBIENTALES	9
1.1. Agua de mar	10
1.2. Agua termal	12
1.3. Materias primas y productos de centrales térmicas.....	17
1.3.1. Características del carbón.....	18
1.3.2. Elementos traza en el carbón y su comportamiento durante la combustión	19
1.4. Material particulado atmosférico.....	22
2. TOXICIDAD	24
3. LEGISLACIÓN.....	28
3.1. Aguas continentales.....	29
3.2. Contaminación marina.....	30
3.3. Contaminación atmosférica.....	30
4. BIBLIOGRAFÍA	33

1. IMPORTANCIA DE LA DETERMINACIÓN DE METALES EN DISTINTAS MUESTRAS MEDIOAMBIENTALES

Los metales se encuentran ampliamente distribuidos en el medio ambiente. Su presencia puede tener un origen natural o ser el resultado de distintas actividades antropogénicas derivadas del desarrollo industrial. Estas actividades han provocado el enriquecimiento de los metales en el medioambiente, originándose una acumulación de 100 a 1000 veces más alta en relación con su proporción natural en la corteza terrestre, con la excepción del Fe y Hg [1]. Por ello, su distribución geográfica y las concentraciones encontradas en distintos compartimentos medioambientales como aire, agua y suelos son factores importantes a la hora de evaluar la exposición de los seres vivos a la contaminación metálica [2].

A pesar de la amplia variedad de fuentes, los distintos contaminantes metálicos terminan por alcanzar las aguas superficiales. La mayoría de los residuos que contienen metales, generados en numerosas operaciones industriales, se encuentran en forma líquida, por lo que rápidamente alcanzan las aguas naturales. Además de estas descargas directas, en el aire se liberan cantidades significativas de muchos metales, que de manera eventual se depositan en la superficie o son llevadas hasta allí por la lluvia. Los metales contenidos en los residuos sólidos son lixiviados hacia los cursos de agua. Las disoluciones de compuestos metálicos resultantes se mezclan a veces con las aguas superficiales. La escorrentía agrícola, los residuos mineros y el alcantarillado doméstico contribuyen también a las concentraciones de metales que se encuentran en las aguas naturales.

La eliminación de los metales presenta especiales dificultades. A diferencia de los contaminantes orgánicos, los metales no pueden degradarse ni biológica ni químicamente en la naturaleza. Los compuestos que los contienen, pueden alterarse, pero los metales indeseables aún permanecen. Su estabilidad permite que sean transportados a distancias considerables tanto por aire como por agua. Uno de los

resultados más graves de su persistencia es la amplificación biológica de los metales en las cadenas tróficas. Como consecuencia de esto, los niveles de metales en los miembros superiores de la cadena trófica pueden alcanzar valores altos, lo que provocaría que muchas plantas y animales lleguen a constituir un peligro para la salud humana al usarse como alimento [3,4].

1.1. AGUA DE MAR

Los metales son constituyentes naturales del agua de mar y por ello determinar el efecto de la contribución debida a las actividades humanas es complicado por el amplio aporte natural: erosión de rocas, arrastre de polvo por el viento, actividades volcánicas, incendios y vegetación. Los ríos pueden considerarse como la principal fuente de metales al mar, ya que cuando un río pasa a través de una zona urbana o industrial, la carga de metales aumenta debido a la producción de deshechos [5].

Por otro lado, el análisis de metales en agua de mar presenta dos problemas fundamentales: la composición salina del agua de mar y la baja concentración de los metales en la misma.

La composición del agua de mar es prácticamente constante si tenemos en cuenta los constituyentes mayoritarios, mientras que la concentración de los componentes minoritarios, sobre todo para los de menor tiempo de residencia, varía dependiendo de la profundidad y localización.

Los cationes y aniones más frecuentes presentes en el agua de mar son $\text{Na}^+ \gg \text{Mg}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{K}^+$ y $\text{Cl}^- \gg \text{SO}_4^{2-} > \text{HCO}_3^- > \text{Br}^-$, siendo sus concentraciones las que se muestran en la **Tabla 1**. La concentración salina o salinidad varía entre un 32 y 37‰, siendo la media de 35‰.

Tabla 1. Composición del agua de mar [6]

Cationes	Concentración (g kg ⁻¹)	Aniones	Concentración (g kg ⁻¹)
Na ⁺	10.77	Cl ⁻	19.354
Mg ²⁺	1.29	SO ₄ ²⁻	2.712
Ca ²⁺	0.412	HCO ₃ ⁻	0.142
K ⁺	0.399	Br ⁻	0.067
H ₃ BO ₃	0.026	F ⁻	0.0013
Sr ²⁺	0.008		
SiO ₂	0.003		

Por otro lado, la concentración de metales en el agua de mar oscila entre 0.01 µg L⁻¹ en aguas de mar no contaminadas y 1 µg L⁻¹ en aguas de mar de zonas costeras y estuarios. En la **Tabla 2** se muestran las concentraciones de algunos elementos presentes en el agua de mar, así como las especies más probables bajo las que estos elementos se encuentran.

Tabla 2. Formas químicas y concentraciones de algunos elementos en agua de mar [7]

Elemento	Concentración (µg L ⁻¹)	Rango (µg L ⁻¹)	Tiempo residencia(años)	Especie teórica
As	3.7	0.5-3.7	280000	AsO ₄ H ²⁻ , orgánico
Bi	0.02	0.015-0.02	38000	BiO ⁺
Cd	0.11	<0.01-9.4	40000	coloide, CdCl ₂
Ge	0.05	-	-	GeO ₄ H ₃ ⁻
Hg	0.03	0.01-0.22	11000	HgCl ₄ ²⁻ , orgánico
In	0.00011	-	-	-
Pb	0.03	0.03-13	380	PbCO ₃ , coloide
Sb	0.24	0.18-5.6	45000	Sb(OH) ₆ ⁻
Se	0.2	0.052-0.2	38000	SeO ₃ ²⁻ +SeO ₄ ²⁻
Te	-	-	-	TeO ₃ H ⁻
Tl	0.019	-	-	-

1.2. AGUA TERMAL

La determinación de metales en aguas termales ha cobrado un gran interés debido al reciente auge del “Turismo de Salud”. El termalismo se remonta a hace más de 2000 años, cuando los Romanos ya sabían de los beneficios del agua empleándola para combatir enfermedades y cultivar el bienestar y la belleza personal. En España se estiman en unos 2000 los manantiales naturales que proveen a los balnearios de las diferentes aguas mineromedicinales para su posterior uso terapéutico, siendo 120 las estaciones termales actualmente en uso [8].

La legislación española no define de una forma genérica qué es un agua mineral, aunque sí establece diferencias entre distintos tipos de aguas. Se puede deducir que son aquellas aguas subterráneas que por sus características físico-químicas pueden incluirse en las definidas en la Reglamentación Técnico Sanitaria para la Elaboración, Circulación y Comercio de Aguas de Bebida Envasada, texto aprobado en el Real Decreto 1164/1991 de 22 de julio (BOE de 26 de julio de 1991).

En los países de nuestro entorno se observan dos tendencias a la hora de definir las características de un agua mineral, por un lado el concepto latino-mediterráneo, adoptado por casi toda Europa y algunos países árabes y por otro el germánico, seguido por Alemania y Austria.

Según el concepto latino, un agua mineral podría definirse como un agua natural que puede ser utilizada con fines terapéuticos y respecto a su composición química solamente se establecen dos requisitos: estabilidad en su composición química (estabilidad en sus características químicas y físico-químicas) y no sufrir ningún tratamiento que pueda alterar su composición química, biológica o ambas.

El concepto germánico, sin embargo, exige que contengan por lo menos 1 g L^{-1} de sales minerales disueltas o 250 mg L^{-1} de gas carbónico libre o temperatura superior a 20°C .

Existen muy pocos textos legales en los que se aborde el control de calidad de las aguas minero-medicinales. Así, la Unión Europea no ha publicado ninguna Directiva sobre este tema y en España la referencia legal vigente más antigua es el Real Decreto Ley de 25 de abril de 1928 en el que se aprueba el Estatuto sobre la explotación de manantiales de aguas minero-medicinales.

Posteriormente en la Ley de Aguas de 1985, se hace referencia a este tipo de aguas donde se establece que “las aguas minerales y termales se regularán por su legislación específica”.

Tampoco en la Ley de Minas de 1973 ni en su Reglamento de 1978, se hace referencia al control de las aguas que hayan sido declaradas minero-medicinales.

Las competencias en aguas minerales han sido transferidas a las comunidades autónomas. De todas ellas, las comunidades de Cantabria, Cataluña, Extremadura y Galicia han promulgado diversas Leyes o Decretos. Con relación a esta última comunidad en la que se centrará este estudio, la Ley 5/1995 de 7 de junio, de regulación de las aguas minerales, termales, de manantial y de los establecimientos balnearios de la Comunidad Autónoma de Galicia (Diario Oficial de Galicia de 21 de junio de 1995) divide dichas aguas en tres grupos:

1. Aguas minerales. Éstas, a su vez, se clasifican en:

(a) *Aguas minero-medicinales*: las alumbradas natural o artificialmente y que por sus características y cualidades sean declaradas de utilidad pública y sean aptas para tratamientos terapéuticos.

(b) *Aguas minero-industriales*: las que permiten el aprovechamiento racional de las sustancias que contengan, entendiéndose incluidas las aguas tomadas del mar a estos efectos.

(c) *Aguas minerales naturales*: aquellas bacteriológicamente sanas que tengan su origen en un estrato o depósito subterráneo y que broten de un manantial en uno o varios puntos de alumbramiento naturales o perforados.

2. Aguas termales: son aquellas cuya temperatura de surgencia sea superior, al menos, en 4°C a la media anual del lugar en que alumbren.
3. Aguas de manantial: aquellas de origen subterráneo que emergen espontáneamente en la superficie de la tierra o se captan mediante labores practicadas al efecto, con las características naturales de pureza que permiten su consumo.

Además de esta ley, la Comunidad Autónoma de Galicia, ha promulgado el Decreto 402/1996 de 31 de octubre, por el que se aprueba el Reglamento de aprovechamiento de aguas mineromedicinales, termales y de los establecimientos balnearios de la Comunidad Autónoma de Galicia (Diario Oficial de Galicia de 19 de noviembre de 1996), y la Orden de 5 de noviembre de 1996 por la que se regula la autorización sanitaria de los establecimientos balnearios de la Comunidad Autónoma de Galicia (Diario Oficial de Galicia de 20 de noviembre de 1996).

Cada una de las aguas minero-medicinales, termales o no, tiene unas características físicas y químicas propias, así como también microbiológicas, que le confieren un perfil, una especificidad que a su vez determina sus propiedades y, por tanto, sus aplicaciones. Tradicionalmente, se ha tendido a considerar que tales características son siempre estables y se mantienen en el tiempo de manera inalterable. Sin embargo, este criterio no es siempre cierto y son numerosos los factores que pueden condicionar tal permanencia, como caudal, temperatura, radiactividad, calidad microbiológica, etc. [9].

Existe una gran variedad de criterios para clasificar las aguas minero-medicinales. Las de mayor interés son las basadas en las propiedades físicas del agua, en especial la temperatura, y sobre todo las basadas en el contenido aniónico y catiónico predominantes.

1. Clasificación según la temperatura de surgencia

La temperatura de las aguas depende fundamentalmente de la profundidad de su origen, ya que tanto la temperatura, como la presión, aumentan con la profundidad y así puede hablarse de gradiente geotérmico, aceptándose 3°C por cada 100 metros.

Se pueden clasificar siguiendo criterios universales o climáticos.

(a) *Clasificación universal*: Impone límites rígidos a la temperatura mínima del agua para que pueda ser considerada termal.

- | | |
|-------------------------------|----------------|
| – Aguas frías | Menos de 20°C |
| – Hipotermas o templadas | Entre 20-35°C |
| – Mesotermas o calientes | Entre 35-45°C |
| – Hipertermas o muy calientes | Más de 45-50°C |

(b) *Clasificación de tipo climático*: Compara la temperatura del agua con la media anual del aire (T_{ma}) o del suelo en el punto de surgencia, y con la cota de altitud de la surgencia.

- | | |
|----------------------|----------------------------------|
| – Hipotermal | $T < T_{ma}$ |
| – Ortotermal | $T = T_{ma} + 4^{\circ}\text{C}$ |
| – Epitermal o termal | $T > T_{ma} + 4^{\circ}\text{C}$ |

2. Clasificación basada en la mineralización

El RD 1164/1991 de 22 de julio por el que se aprueba la “Reglamentación Técnico Sanitaria para la Elaboración, Circulación y Comercio de Aguas de Bebida Envasada” las divide en las siguientes categorías:

- De mineralización muy débil: hasta 50 mg L⁻¹ de residuo seco
- De mineralización débil u oligometálicas: entre 50-500 mg L⁻¹ de residuo seco
- De mineralización fuerte: más de 1500 mg L⁻¹ de residuo seco
- Bicarbonatada: más de 600 mg L⁻¹ de bicarbonato
- Sulfatada: más de 200 mg L⁻¹ de sulfatos
- Clorurada: más de 200 mg L⁻¹ de cloruro
- Cálcica: más de 150 mg L⁻¹ de calcio
- Magnésica: más de 50 mg L⁻¹ de magnesio
- Fluorada: más de 1 mg L⁻¹ de fluoruros
- Ferruginosa: más de 1 mg L⁻¹ de hierro trivalente
- Acidulada: más de 250 mg L⁻¹ de CO₂ libre
- Sódica: más de 200 mg L⁻¹ de sodio
- Indicada para dietas pobres en sodio: hasta 20 mg L⁻¹ de sodio

La mayoría de las aguas minero-medicinales experimentan pequeñas variaciones que deben ser perfectamente conocidas y controladas. Si se conoce la composición determinada por los componentes mayoritarios, los minoritarios, los oligoelementos y algún elemento en particular que incluso sin ser mayoritario caracterice una determinada agua, como el fluor, resultará fácil detectar la aparición de anomalías, como la disminución del conjunto de sales disueltas o bien el aumento de algún parámetro que indique una contaminación de origen externo.

1.3. MATERIAS PRIMAS Y PRODUCTOS DE CENTRALES TÉRMICAS

El carbón es ampliamente utilizado como fuente de energía a escala mundial. Hoy en día, el elevado consumo de carbón, junto con una mayor preocupación por el medioambiente, ha llevado a la realización de diversos estudios en los que se intenta caracterizar el posible impacto que puedan tener las centrales térmicas en su entorno. La Química Analítica juega un papel importante en la obtención de datos significativos de diversos contaminantes en carbón y comprende los pasos de muestreo, análisis y evaluación de los resultados [10].

La combustión de carbón produce una gran cantidad de residuos tales como cenizas volantes, escorias o productos secundarios de los procesos de desulfuración. Dichos residuos alcanzan las diversas partes de la biosfera (**Figura 1**) debido a su deposición o bien gracias a su reutilización en diversos campos, como la agricultura.

En lo que respecta a los productos de combustión, la mayoría de la información disponible es acerca de las cenizas y escorias. Las cenizas pueden causar algunos efectos sobre los ecosistemas terrestres como: lixiviación de sustancias potencialmente tóxicas en suelos y sistemas acuáticos, reducción de la reforestación y crecimiento de la vegetación, cambios en la composición elemental de las plantas, incremento de la movilidad y acumulación de elementos potencialmente tóxicos en la cadena trófica.

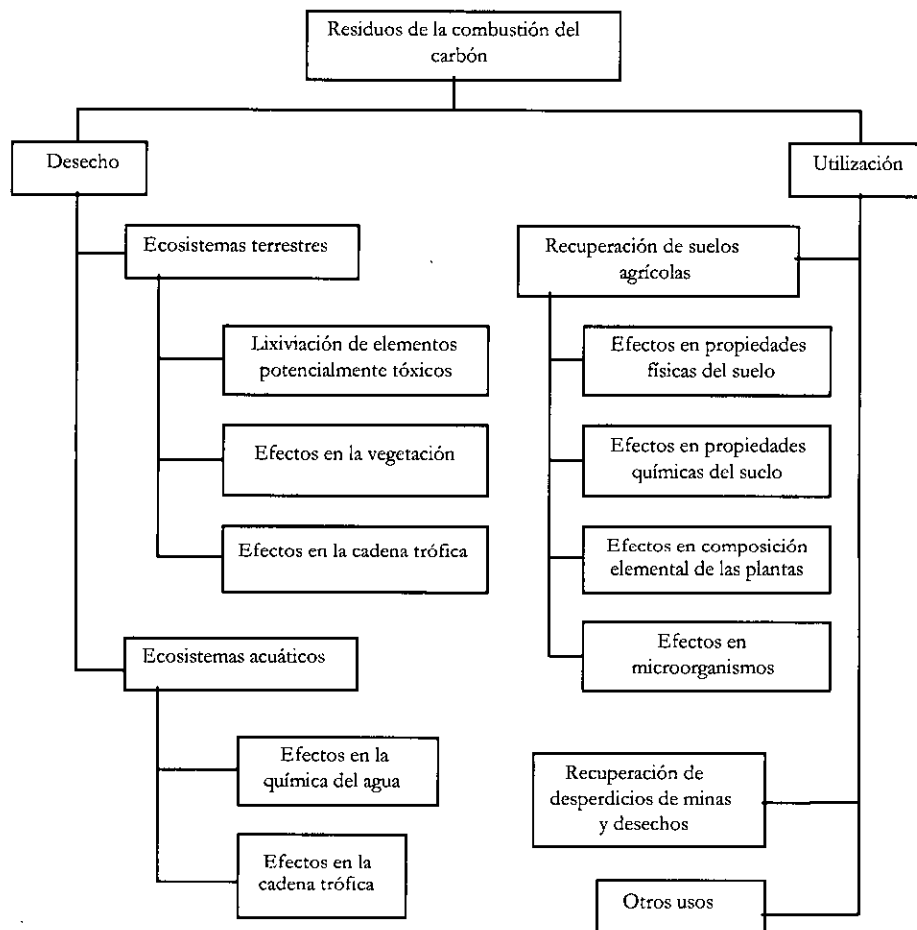


Figura 1. Impacto medioambiental de los residuos de combustión del carbón [11]

1.3.1. Características del carbón

El carbón no es una sustancia homogénea, sino que está formado por muchos componentes de diferentes propiedades. Puede ser definido como una roca sedimentaria, formada a partir de la descomposición parcial de plantas depositadas en

zonas donde prevalecían condiciones pantanosas y, por lo tanto, se puede decir que el carbón es una roca mayoritariamente orgánica.

Un depósito de carbón es el resultado final de varios procesos, como la degradación de la vegetación, su deposición y recubrimiento por sedimentos, movimientos de la corteza terrestre y fuerzas de erosión. Dichos factores determinarán la naturaleza, calidad y posición relativa de los yacimientos de carbón.

Como ya se ha indicado, el carbón presenta una composición muy heterogénea. Básicamente se puede decir que está compuesto por una parte mineral y otra orgánica y siempre acompañado de diferentes grados de humedad. La parte mineral a su vez está constituida por una fase volátil y por las cenizas, las cuales configurarán posteriormente los inquemados del carbón. Esta parte inorgánica sólida está constituida por compuestos como silicatos, carbonatos o sulfuros. La parte orgánica también está constituida por una parte volátil, que suele variar en función del grado de maduración del carbón, y una fase no volátil a la cual se le denomina carbono fijo.

Debido a la heterogeneidad del carbón, se han propuesto distintas clasificaciones en función de sus propiedades, tales como edad geológica, contenido petrográfico, comportamiento frente a ciertos disolventes o agentes químicos, etc. La forma más común de clasificación es en base a su “rango”, que es el grado de metamorfismo que el sedimento orgánico vegetal ha alcanzado en su transformación [12]. De esta manera, se pueden dividir en cuatro grandes grupos: lignito, carbón subbituminoso, carbón bituminoso y antracita. En dicho orden, aumenta el poder calorífico y el grado de maduración del carbón (o rango del carbón) y disminuye el porcentaje en cenizas.

1.3.2. Elementos traza en el carbón y su comportamiento durante la combustión

El carbón contiene en su composición la mayoría de los elementos presentes en la naturaleza, tanto mayoritarios como minoritarios [13]. Dentro de los mayoritarios se incluyen aquellos presentes en una concentración superior a 1000 ppm: Al, Ca, Fe,

K, Mg, Na, S y Ti, mientras que los elementos traza presentan una concentración inferior a 1000 ppm: As, B, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, F, Ga, Ge, Hf, Hg, Li, Mn, Mo, Nb, Ni, P, Pb, Rb, Sb, Sc, Se, Sn, Sr, Ta, Th, Tl, U, V, W, Zn y Zr.

Durante la combustión los elementos de bajo punto de ebullición son eliminados o liberados bien en forma elemental, bien formando compuestos volátiles, mientras que los elementos de menor volatilidad lo hacen en forma de cenizas o escorias debido a diversos procesos de fusión, volatilización, condensación y coalescencia.

La volatilización de los elementos depende además de la concentración inicial del elemento en el carbón, de su asociación a la matriz y de las propias características de la misma. Así, los elementos ligados a la fase orgánica tienen mayor probabilidad de ser volatilizados que los asociados a la fracción mineral [13].

Los elementos traza se pueden clasificar en tres grupos en función del comportamiento durante la combustión. La clasificación más aceptada, definida en la **Figura 2**, es la siguiente:

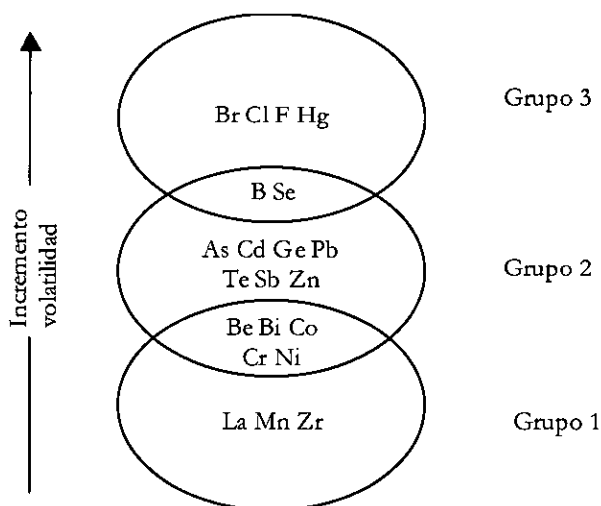


Figura 2. Clasificación de los elementos en función de su volatilidad [14]

- Grupo 1: Formado por elementos de baja volatilidad a las temperaturas normales de combustión (1200-1600°C) los cuales se concentran en residuos gruesos (escorias) o en cenizas superiores a 2 μm . Los elementos de este grupo se denominan litófilos.
- Grupo 2: Formado por elementos que se vaporizan, condensándose a continuación. Tienden a concentrarse en partículas finas.
- Grupo 3: Formado por elementos de gran volatilidad que permanecen en fase gas y pueden ser emitidos por la chimenea. Los elementos del Grupo 2 y Grupo 3 se denominan calcófilos.

No obstante, como se observa en la **Figura 2**, esta clasificación no es rígida ya que existe un considerable solapamiento entre los grupos dependiendo de las condiciones a las que se somete el carbón durante la combustión, tales como variaciones en la temperatura de la misma.

Dentro de los elementos traza presentes en el carbón, algunos de ellos pueden causar ciertos problemas en su emisión.

Numerosos estudios han puesto de manifiesto la toxicidad metálica y el carácter carcinogénico y mutagénico de algunos metales liberados durante procesos de combustión, que pueden afectar a distintos órganos (hígado, pulmones, etc.) y a distintos sistemas (nervioso, reproductivo, etc.) [10,13,15,16]. Recientemente Finkelman y col., estudiaron los efectos adversos de carbones que contienen As, F, Hg y Se [17], mientras que He y col. estudiaron la distribución de As y Se en minas de carbón [18]. Ambos estudios fueron realizados en China.

1.4. MATERIAL PARTICULADO ATMOSFÉRICO

El particulado atmosférico es un término empleado para describir las pequeñas partículas, tanto sólidas como líquidas, presentes en la atmósfera. Es emitido por gran variedad de fuentes, por lo que sus propiedades varían mucho dependiendo de las mismas [19].

Tanto las partículas de origen natural como las de origen antropogénico pueden ser clasificadas, en función de su mecanismo de formación, como partículas primarias o secundarias. Las partículas primarias son aquellas que se vierten directamente en la atmósfera desde la fuente de emisión, mientras que las secundarias se forman en la atmósfera a partir de gases emitidos por diferentes fuentes.

Las emisiones globales naturales y antropogénicas se estiman en 3.4×10^9 toneladas/año, de las que las emisiones antropogénicas no representan más de un 10%. De manera general, se puede decir que las partículas naturales son primarias, mientras que las de origen antropogénico tienden a ser secundarias.

El material particulado atmosférico ha sido considerado como el contaminante atmosférico más importante en cuanto a la salud humana. Es importante conocer el tamaño de partícula, debido a que será un factor determinante en la posible peligrosidad como contaminante. Así, atendiendo al tamaño de corte de las partículas seleccionado por los cabezales de los sistemas de captación, se definen diversos parámetros como TSP (*Total Suspended Particulate*), PM_{10} , $PM_{2.5}$ ó PM_1 . Así, se define PM_{10} como las partículas que pasan a través de un cabezal del sistema de captación de tamaño selectivo para un diámetro aerodinámico de $10 \mu m$ con una eficiencia de corte del 50% y de la misma forma $PM_{2.5}$ y PM_1 [20]. Las partículas más finas ($<2.5 \mu m$) son las que más contribuyen a los efectos sobre la salud, debido a su facilidad para penetrar y acumularse en las regiones más bajas del sistema respiratorio [21].

Por todo ello conocer la composición química del particulado atmosférico es muy importante. La **Figura 3** ilustra los factores básicos responsables de la composición inorgánica del particulado atmosférico.

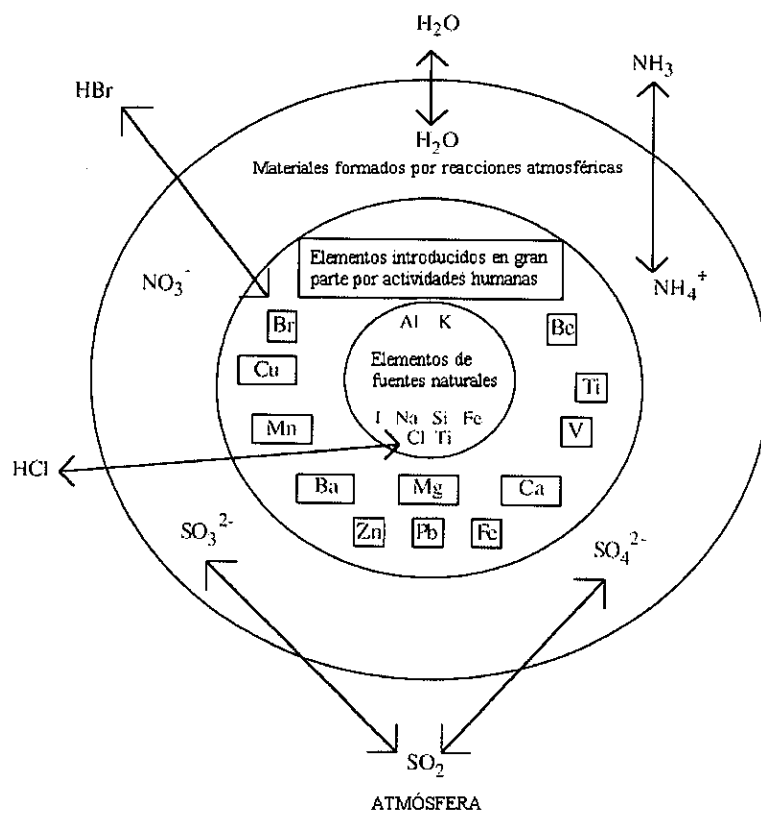


Figura 3. Componentes inorgánicos del material particulado atmosférico [22]

Como se observa en la **Figura 3**, los metales traza se encuentran en el particulado atmosférico debido a diversas fuentes naturales o bien a distintas actividades derivadas de la actuación del hombre. Son liberados a la atmósfera durante procesos de combustión de madera y combustibles fósiles, así como durante procesos de incineración. Las emisiones naturales son debidas a gran variedad de procesos como emisiones volcánicas, procesos de erosión e incendios [23].

La combustión de combustibles fósiles es la principal fuente antropogénica de Be, Co, Hg, Mo, Ni, Sb, Se, Sn y V, mientras que los procesos derivados de la industria metalúrgica producen grandes emisiones de As, Cd, Cu, Ni y Zn. A escala global, el polvo superficial resuspendido contribuye a las emisiones naturales de metales traza a la atmósfera con más del 50% de Cr, Mn y V y un 20% de Cu, Mo, Ni, Pb, Sb y Zn, mientras que las actividades volcánicas generan un 20% del Cd, Hg, As, Cr, Cu, Ni, Pb y Sb atmosféricos [23].

Por otro lado, también es importante el estudio del particulado atmosférico interior, sobre todo el caso de ambientes laborales, debido a la exposición de los trabajadores a posibles agentes contaminantes.

2. TOXICIDAD

En las últimas décadas ha aumentado la preocupación por la contaminación ambiental, debido a que la introducción por el hombre de sustancias en el medio ambiente causa efectos adversos para la salud pública, la agricultura, la productividad y el ecosistema natural [24].

Una sustancia tóxica es aquella que tiene un efecto adverso sobre la salud. Muchas sustancias químicas pueden ser clasificadas como tóxicas, si bien el nivel de toxicidad de dicha sustancia, que indica la cantidad que causa un efecto adverso, puede variar de unas a otras [6]. En este sentido debemos distinguir entre elemento esencial y no esencial.

Un elemento es considerado esencial si una carencia del mismo produce síndrome de deficiencia y si una administración de dicho elemento previene o cura esa desviación. Sin embargo, si la concentración de dicho elemento es demasiado alta puede producirse un envenenamiento o incluso la muerte.

Por otra parte, un elemento no esencial es aquel que incluso a muy bajas concentraciones produce un efecto negativo sobre los organismos [25].

En la **Tabla 3** se muestra una clasificación de los metales en función de su esencialidad para los seres vivos.

Tabla 3. Esencialidad de los metales [26]

Esenciales	No esenciales
Co, Cu, Cr, Fe, Mg,	Ag, Al, As, Au, Ba, Be, Bi,
Mn, Mo, Se, Zn	Cd, Ga, Ge, Hg, In, Li, Ni,
	Pb, Pt, Sb, Sn, Sr, Te, Ti, Tl,
	U, V

Las **Figuras 4a** y **4b** representan la relación entre la cantidad y el efecto o respuesta de los elementos esenciales y no esenciales o tóxicos.

La toxicidad de los metales es conocida desde la antigüedad, así, el arsénico, considerado universalmente como el veneno ideal, posee una tradición tóxica milenaria. Sus efectos tóxicos ya eran bien conocidos en el año 340 a.c., aunque sus propiedades tóxicas sólo fueron claramente reconocidas poco después del descubrimiento del trióxido de arsénico por el alquimista Geber en el S. VIII.

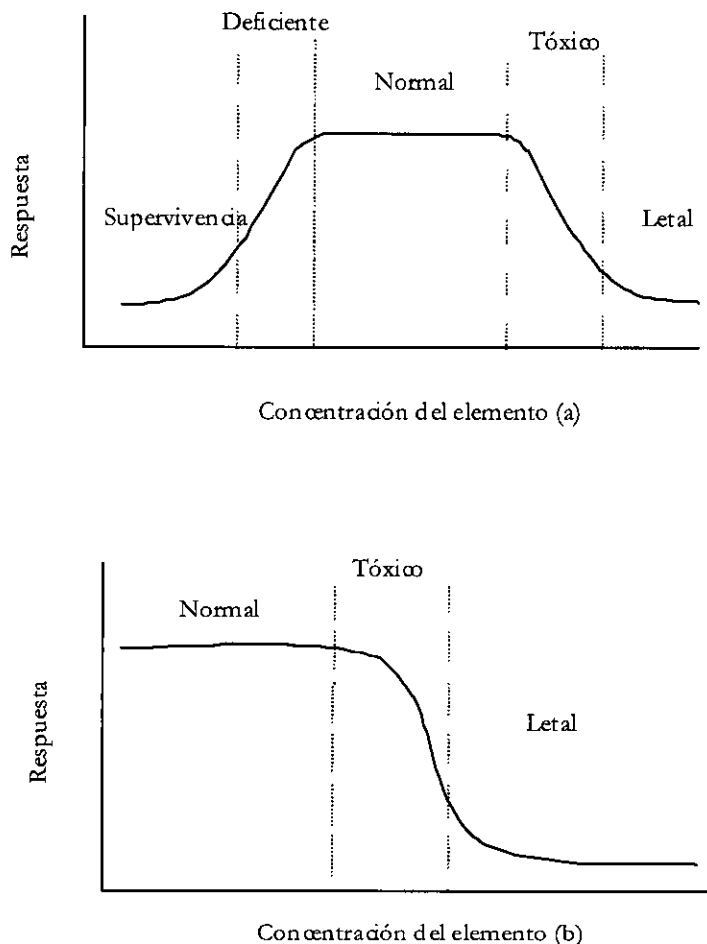


Figura 4. Relación entre concentración y respuesta para elementos (a) esenciales y (b) tóxicos [6]

Pero la toxicidad de los metales también depende de la forma química en la que se introducen en el organismo. Por lo general los compuestos orgánicos de los metales son más tóxicos que los compuestos inorgánicos. Así, los compuestos orgánicos de Hg y Sn son entre 10 y 100 veces más tóxicos que los inorgánicos; sin embargo, esto no ocurre así con el As, donde las formas orgánicas son menos tóxicas que los compuestos inorgánicos As(III) y As(V) [27].

También el estado de oxidación determina el carácter tóxico de un metal. Un ejemplo notable es el caso del Cr; mientras el Cr(III) es un elemento esencial, el Cr(VI) es cancerígeno a niveles muy bajos [28].

En el ser humano, las principales vías de entrada de metales traza son la ingestión y la inhalación. Su efecto en el organismo produce daño en distintos órganos presentando, además, carácter mutagénico y carcinogénico. A esto hay que añadir que los metales no son biodegradables, es decir, una vez que penetran en el organismo tienden a bioacumularse hasta su excreción [4,29].

El efecto perjudicial de los metales sobre los seres humanos y el medioambiente es ampliamente conocido, como se refleja en casos de contaminación masiva por As en Taiwan, México o Argentina, encefalopatías en Francia y Australia producidas por contaminación por Bi, o casos recientes de enfermedades endémicas encontradas en China debidas al Se [30-32].

La intoxicación debida a metales como As, Bi o Sb puede producir en el hombre fiebre, anorexia, arritmia cardíaca y eventualmente fallo cardiovascular, mientras que la pérdida sensorial en el sistema nervioso periférico es el efecto neurológico más común. Para el Ge y Te no se conocen casos de intoxicación masiva, aunque la exposición prolongada a dichos metales produce síntomas de envenenamiento como somnolencia, anorexia, náuseas, alucinaciones auditivas, entumecimiento de extremidades, etc. [33].

Además, han sido diagnosticados cánceres de pulmón e hígado debidos a la exposición laboral a metales como As, Sb o Bi, así como cánceres de piel producidos por la exposición a arsénico (que difieren de los producidos por la luz UV en que se localizan en zonas no expuestas al sol) [30].

3. LEGISLACIÓN

La importancia de los metales como agentes contaminantes, hace necesario un control no sólo a nivel local, sino que también es necesario un control internacional para evitar el incremento global de la concentración de metales en el medio ambiente.

De los metales estudiados en este trabajo (As, Bi, Ge, Sb, Se y Te) existe un gran volumen de legislación para todos ellos excepto para el Bi y Ge. Aunque no existe legislación específica para ninguno de ellos, aparecen reflejados como sustancias contaminantes en la legislación de ámbito comunitario, estatal y autonómico.

De manera general la Unión Europea incluye al As en el Anexo III de la Directiva 96/61/CE (24 de septiembre de 1996 DOCE núm. L 257, de 10 de octubre de 1996) relativa a la prevención y al control integrado de la contaminación.

En el ámbito estatal, el As y Se se encuentran recogidos en el Reglamento de Actividades Molestas, Insalubres, Nocivas y Peligrosas aprobado por Decreto 2414/1961 de 30 de noviembre de 1961 (BOE núm. 292, de 7 de diciembre de 1961).

Algunas comunidades autónomas también contemplan en su legislación estos metales atendiendo a causas diferentes. Así, la Comunidad Murciana los incluye en el capítulo primero de la Resolución de la Dirección General de Protección Civil y Ambiental por la que se aprueba el Plan Sectorial de Adecuación Ambiental de las empresas del sector del metal (BO Murcia, núm. 89, de 20 de abril de 1998), mientras que la Comunidad de Madrid lo hace en el Decreto 326/1999 de 18 de noviembre, por el que se regula el régimen jurídico de los suelos contaminados (BO Madrid núm. 280, de 25 de noviembre de 1999; c.e. BO Madrid núm. 286, de 2 de diciembre de 1999). La Comunidad de Cataluña regula los niveles de As y Sb en aceites base y regenerados en la Resolución de 19 de febrero de 1998 (DOGC núm. 2606, de 25 de marzo de 1998) fijando dichos valores en 2 ppm en ámbos casos. Dicha comunidad, también contempla el As dentro de la Ley 3/1998, de 27 de febrero, de la intervención integral de la Administración Ambiental (DOGC núm. 2598, de 13 de

marzo de 1998) dentro del Anexo I de actividades sometidas al régimen de autorización ambiental.

Considerando los distintos compartimentos medioambientales, estos elementos también son tenidos en cuenta. A continuación se presenta una selección de las normas que regulan la presencia de estos metales en distintas matrices de interés ambiental. De nuevo queda reflejada la falta de legislación específica para el caso de Bi y Ge.

3.1. AGUAS CONTINENTALES

En cuanto a las aguas continentales, estos elementos pueden actuar como contaminantes del medio acuático o de las aguas subterráneas, como se pone de manifiesto en la Directiva del Consejo 76/464 de 4 de mayo de 1976, relativa a la contaminación causada por determinadas sustancias peligrosas vertidas en el medio acuático de la Comunidad (DOCE núm. L 129, de 18 de mayo de 1976) y en la Directiva del Consejo 80/68/CEE de 17 de diciembre de 1979, relativa a la protección de las aguas subterráneas contra la contaminación causada por determinadas sustancias peligrosas (DOCE núm. L 20, de 26 de enero de 1980).

Asimismo, en la Directiva 98/83/CE de 3 de noviembre de 1998, relativa a la calidad de las aguas de consumo humano (DOCE núm. L 330 de 5 de diciembre de 1998) se establecen unos valores máximos de 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Sb y 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As y Se para este tipo de aguas.

En el ámbito estatal, se consideran estos elementos como contaminantes de las aguas potables de consumo público (Real Decreto 1138/1990 de 14 de septiembre, BOE núm. 226, de 20 de septiembre de 1990; c.e. BOE núm. 282, de 24 de noviembre de 1990), siéndole los valores máximos de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As y 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Sb y Se. Las aguas superficiales también están controladas según el Real Decreto 849/1986 de 11 de abril, (BOE núm. 103, de 30 de abril de 1986; c.e. BOE núm. 157, de 2 de julio de 1986), en el cual los artículos 245 a 273 y 256 a 258 trasponen las

normas de emisión señaladas por las Directivas 76/464/CEE y 80/68/CEE respectivamente, publicándose las modificaciones en el Real Decreto 1315/1992, de 30 de octubre (BOE núm. 288 de 1 de diciembre de 1992).

Asimismo, el As está considerado dentro del Real Decreto 781/1998 de 30 de abril, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la Elaboración, Circulación y Comercio de Aguas de Bebida Envasada (BOE núm. 121, de 21 de mayo de 1998).

En el ámbito autonómico, las comunidades de Madrid, Canarias y Asturias regulan el vertido de aguas industriales a los sistemas públicos de Saneamiento (Ley 10/1993 de 26 de octubre, BO Madrid núm. 269, de 12 de noviembre de 1993; rectif. BO Madrid núm. 307, de 27 de diciembre 1994; Decreto 174/1994 de 29 de julio, BO Canarias núm. 104, de 24 de agosto de 1994; Ley del Principado de Asturias 5/2002 de 3 de junio de 2002).

3.2. CONTAMINACIÓN MARINA

A nivel comunitario, estos elementos se consideran sustancias contaminantes del medio marino, como se pone de manifiesto en la Decisión 94/156/CE del Consejo, de 21 de febrero de 1994, por la que se adhiere la Comunidad al convenio sobre la protección del medio marino de la zona del mar Báltico (Convenio de Helsinki de 1974) (DOCE núm. L 73, de 16 de marzo de 1994).

La legislación estatal los considera vertidos peligrosos en el Real Decreto 258/1989, de 10 de marzo, por el que se establece la normativa general sobre vertidos de sustancias peligrosas desde tierra al mar (BOE núm. 64, de 16 de marzo de 1989).

3.3. CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA

A nivel comunitario, sólo el As es reconocido como contaminante en la Directiva 96/62/CE de 27 de septiembre, sobre evaluación y gestión de la calidad del aire ambiente (DOCE núm. L 296, de 21 de noviembre de 1996).

El estado español contempla al As como contaminante, en la Orden de 18 de octubre de 1976 sobre prevención y corrección de la contaminación atmosférica de origen industrial (BOE núm. 290, de 3 de diciembre de 1976). Asimismo, lo cataloga también junto con el Sb y Se, como contaminante derivado de las industrias químicas dentro de las actividades potencialmente contaminadoras de la atmósfera en el Decreto 833/1975 de 6 de febrero, por el que se desarrolla la Ley 38/1972 de 22 de diciembre de protección del ambiente atmosférico (BOE núm. 96, de 22 de abril de 1975; c.e. BOE núm. 137, de 9 de junio de 1975).

Algunas comunidades autónomas, como Andalucía y Cataluña siguen el mismo criterio para la clasificación de actividades potencialmente contaminadoras de la atmósfera, como figura en el Anexo I del Decreto 74/1996 (Andalucía) de 20 de febrero, por el que se aprueba el Reglamento de la Calidad del Aire (BOJA núm. 30, de 7 de marzo de 1996; c.e. BOJA núm. 48, de 23 de abril de 1996) y en el Anexo I del Decreto 322/1987 (Cataluña) de 23 de septiembre de 1987, que desarrolla la Ley de 21 de noviembre de 1983, de protección del ambiente atmosférico (DOGC núm. 919, de 25 de noviembre de 1987). Además, el programa de vigilancia ambiental implantado para instalaciones de incineración en Cataluña exige la realización de dos medidas anuales de estos contaminantes en los gases finales de combustión (Anexo 3.1 del Decreto 323/1994 (Cataluña) de 4 de noviembre, DOGC núm. 1986, de 16 de diciembre de 1994; rectif. DOGC núm. 2022, de 10 de marzo de 1995).

Por último, la Comunidad de Navarra también establece controles periódicos de As, Sb y Te en el Decreto Foral 6/2002, de 14 de enero, por el que se establecen las condiciones aplicables a la implantación y funcionamiento de las actividades susceptibles de emitir contaminantes a la atmósfera (BO Navarra núm. 31, de 11 de marzo de 2002).

En cuanto a la atmósfera interior existen diversas directivas y disposiciones relativas a los niveles máximos permitidos para estos metales, además de otros productos químicos, en el medio ambiente laboral. Entre ellas se encuentran la ley

31/1995, 8 de Noviembre, de prevención de riesgos laborales, y del Real Decreto 39/1997, de 17 de Enero, por el que se aprueba el Reglamento de los Servicios de Prevención, los cuales implican la necesaria utilización de valores límite de exposición para poder valorar los riesgos específicos debidas a exposiciones de agentes químicos. Los agentes químicos en la actualidad, están regulados en España por el RD 374/2001 de 6 de Abril sobre la protección de la salud y la seguridad de los trabajadores contra los riesgos relacionados con los agentes químicos durante el trabajo, siendo los valores límite de referencia los VLA reflejados en el “Documento sobre límites de exposición profesional para agentes químicos en España 2001-2002” publicada por el INSHT y aprobado por la Comisión Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. Asimismo, el RD 665/1997 de 12 de Mayo es la normativa específica laboral contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes químicos durante el trabajo.

De esta manera, se muestran a continuación los valores límite de exposición profesional diaria adoptados para los metales objeto de este estudio de acuerdo con la legislación vigente [34]:

- As:
 - como arsénico elemental 0.1 mg m^{-3} (cancerígeno C1)
 - como arsenamina $0.05 \text{ ppm}/0.16 \text{ mg m}^{-3}$
 - como arseniato de Pb 0.15 mg m^{-3} (cancerígeno C1)
- Sb: 0.5 mg m^{-3}
- Se: 0.1 mg m^{-3} y 0.07 mg m^{-3} (como seleniuro de hidrógeno)
- Te: 0.1 mg m^{-3}

4. BIBLIOGRAFÍA

- [1] K.H. Wedepohl, 'The composition of the upper earth's crust and the natural cycles of selected metals. Metals in natural raw materials. Natural sources', en: *Metals and their Compounds in the Environment*, E. Merian (Eds.), WCH, Weinheim, Germany, 1991.
- [2] A.M. Fang, 'An introduction to monitoring the environmental and human risk assessment of metals', en: *Toxicology of metals*, L.W. Chang; L. Magos; T. Suzuki (Eds.), Lewis Publishers CRC Press, Boca Raton, Florida, 1996.
- [3] H.S. Stoker, S.L. Seager, *Química Ambiental: contaminación del aire y del agua*, Editorial Blume, Barcelona, 1981.
- [4] R.M. Harrison, *Pollution: Causes, Effects and Control*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 1996.
- [5] R.B. Clark, *Marine pollution*, Oxford University Press, Oxford, 1989.
- [6] J.E. Fergusson, *The heavy elements: chemistry, environmental impact and health effects*, Pergamon Press, Oxford, 1990.
- [7] H.J.M. Bowen, *Environmental Chemistry of the Elements*, Academic Press Inc., London, 1979.
- [8] Turismo de Salud. Balnearios, (2003), www.balnearium.es
- [9] B. Oliver-Rodés Clapés, *Control de calidad de las aguas minero-medicinales*, (1991), www.igme.es/internet/web_aguas/igme/publica/pdfart3/control.pdf.
- [10] A. Iordanidis, A. Georgakopoulos, A. Filippidis, A. Kassoli-Fournaraki, 'A correlation study of trace elements in lignite and fly ash generated in a power station', *International Journal Environmental Analytical Chemistry*, 79 (2001) 133-141.
- [11] C.L. Carlson, D.C. Adriano, 'Environmental impacts of coal combustion residues', *Journal Environmental Quality*, 22 (1993) 227-247.
- [12] American Society for Testing and Material, Comitee D-5 on coal and coke, *ASTM standards on coal and coke*, 1984.
- [13] I.M. Smith, *Trace elements from coal combustion: emissions*, IEA Coal Research, London, 1987.

- [14] L.B. Clarke, 'The fate of trace elements during coal combustion and gasification: an overview', *Fuel*, 72 (1993) 731-736.
- [15] J.W. Kaakinen, R.M. Jorden, M.H. Lawasani, R.E. West, 'Trace element behaviour in coal fired power plant', *Environmental Science and Technology*, 24 (1975) 1811-1818.
- [16] D.H. Klein, A.W. Andren, J.A. Carter, J.F. Emery, C. Feldman, W. Fulkerson, W.S. Lyon, J.C. Ogle, Y. Talmi, N. Bolton, 'Pathways of thirty seven trace elements through coal fired power plants', *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 332 (1975) 973-979.
- [17] R.B. Finkelman, W. Orem, V. Castranova, C.A. Tatu, H.E. Belkin, B. Zheng, H.E. Lerch, S.V. Maharaj, A.L. Bates, 'Health impacts of coal and coal use: possible solutions', *International Journal of Coal Geology*, 50 (2002) 425-443.
- [18] B. He, L. Liang, G. Jiang, 'Distributions of arsenic and selenium in selected Chinese coal mines', *The Science of the Total Environment*, 296 (2002) 19-26.
- [19] T. Godish, *Air Quality*, Lewis Publishers, Boca Raton. New York, 1997.
- [20] R.M. Harrison, M. Jones, 'The chemical composition of airborne particles in the UK atmosphere', *The Science of the Total Environment*, 168 (1995) 195-214.
- [21] A.J. Fernández Espinosa, M. Ternero Rodríguez, F.J. Barragán de la Rosa, J.C. Jiménez Sánchez, 'Size distribution of metals in urban aerosols in Seville (Spain)', *Atmospheric Environment*, 35 (2001) 2595-2601.
- [22] S.E. Manahan, *Fundamentals of environmental chemistry*, Lewis Publishers, EEUU, 1993.
- [23] A.G. Allen, E. Nemitz, J.P. Shi, R.M. Harrison, J.C. Greenwood, 'Size distributions of trace metals in atmospheric aerosols in the United Kingdom', *Atmospheric Environment*, 35 (2001) 4581-4591.
- [24] B.J. Alloway, D.C. Ayres, *Chemical principles of environmental pollution*, Blackie Academic and Profesional, London, 1997.
- [25] C. Vandecasteele, C.B. Block, *Modern Methods for Trace Element Determination*, John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, England, 1993.
- [26] R.M. Jacobs, 'Techniques employed for the assessment of metals in biological systems', en: *Toxicology of metals*, L.W. Chang; L. Magos; T. Suzuki (Eds.), Lewis Publishers CRC Press, Boca Raton, Florida, 1996.

- [27] S.N. Willie, 'First order speciation of As using flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry with in-situ trapping of the arsine in a graphite furnace', *Spectrochimica Acta*, 51B (1996) 1781-1790.
- [28] B. Markert, *Environmental Sampling for Trace Analysis*, VCH, Weinheim, 1994.
- [29] A. Torreblanca, J. Díaz Mayans, J. del Ramo, 'Acumulación de Metales', en: *Metales en Sistemas Biológicos*, A. Mas; J.M. Azcue (Eds.), Promociones y Publicaciones Universitarias, Barcelona, 1993.
- [30] J.M. Azcue, 'Contaminación por efecto de la actividad humana', en: *Metales en sistemas biológicos*, A. Mas; J.M. Azcue (Eds.), Promociones y publicaciones universitarias, Barcelona, 1993.
- [31] Y. Yamini, M. Chaloosi, H. Ebrahimzadeh, 'Solid phase extraction and graphite furnace atomic absorption spectrometric determination of ultra trace amounts of bismuth in water samples', *Talanta*, 56 (2002) 797-803.
- [32] J. Tan, W. Zhu, W. Wang, R. Li, S. Hou, D. Wang, L. Yang, 'Selenium in soil and endemic diseases in China', *The Science of the Total Environment*, 284 (2002) 227-235.
- [33] E. Merian, *Metals and their compounds in the environmental: Occurrence, analysis and biological relevance*, Weinheim VCH, Germany, 1991.
- [34] INSHT (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo), *Límites de exposición profesional para Agentes Químicos en España*, Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales, 2003.

Capítulo 3

**Determinación de As, Bi y Ge mediante
HG-ETAAS**

1. INTRODUCCIÓN	41
1.1. Técnicas de generación de vapor acoplado a AAS	42
1.1.1. Generación de hidruros	43
1.1.2. Generación de vapor frío	49
1.1.3. Otras técnicas de generación de vapor	49
1.2. Métodos de determinación de As, Bi y Ge mediante HG-ETAAS	50
2. MATERIAL, INSTRUMENTAL Y REACTIVOS	55
3. OPTIMIZACIÓN DE LOS MÉTODOS DE HG ACOPLADOS A ETAAS	59
3.1. Introducción	59
3.1.1. Diseños de experiencias en Química Analítica	59
3.1.2. Diseños factoriales	62
3.1.3. Diseños factoriales de Plackett-Burman	64
3.2. Identificación de las variables significativas	67
3.3. Optimización de las variables significativas	82
3.4. Características analíticas de los métodos	92
3.4.1. Rectas de calibrado y adición	93
3.4.2. Límites de detección, cuantificación y masas características	97
3.4.3. Precisión	99
3.4.4. Exactitud	102
4. RECUBRIMIENTOS DE TUBOS DE GRAFITO EN ETAAS	105
4.1. Temperaturas de atrapamiento y atomización. Tiempos de atrapamiento	107
4.1.1. Hidruro de As	108
4.1.2. Hidruro de Bi	118
4.1.3. Hidruro de Ge	124
4.2. Perfiles de absorbancia	128
4.3. Características analíticas de los métodos	131
4.3.1. Rectas de calibrado y adición	131
4.3.2. Límites de detección, cuantificación y masas características	142
4.3.3. Precisión	145
4.3.4. Exactitud	152
4.3.5. Elección de los recubrimientos	155
5. BIBLIOGRAFÍA	156

1.INTRODUCCIÓN

Algunos elementos como As, Bi, Pb, Sb, Se, Sn o Te en presencia de H_2 naciente forman hidruros covalentes, mientras que el Hg forma vapor monoatómico a temperatura ambiente. Esto hace que estas especies puedan determinarse mediante técnicas de generación de vapor como la generación de vapor frío (CV, *Cold Vapour*) para Hg y generación de hidruros covalentes (HG, *Hydride Generation*) [1].

Las especies volátiles así generadas son transportadas por una corriente de gas inerte (generalmente Ar) hacia la unidad de atomización/medida que se encuentra situada en el camino óptico de un equipo de absorción, fluorescencia o emisión atómica. Las unidades de atomización/medida pueden ser: llamas de difusión de hidrógeno (para medidas en absorción atómica (AAS, *Atomic Absorption Spectroscopy*) y fluorescencia atómica (AFS, *Atomic Fluorescence Spectroscopy*)), celdas de cuarzo calentadas externamente o no (para medidas en AAS) y plasma de Ar (para medidas en emisión atómica (AES, *Atomic Emission Spectroscopy*)).

A la hora de trabajar se distinguen dos modos básicos de generar el vapor:

- Generación de vapor con transferencia directa del mismo

El vapor liberado desde la disolución es transportado directamente a la unidad de atomización/medida. Existen tres modos de generación de vapor con transferencia directa: generación en discontinuo (*batch*), sistema de flujo continuo y sistema de inyección en flujo [2].

- Generación de vapor con preconcentración del mismo

El vapor es atrapado en un dispositivo de preconcentración y posteriormente, una vez concluida la liberación del vapor, es transportado a la unidad de medida/atomización. Existen diversas técnicas de preconcentración tales como preconcentración en medios absorbentes, dispositivos bajo presión, atrapamiento criogénico y preconcentración en tubo de grafito (HG-ETAAS, *Hydride Generation*

Electrothermal Atomic Absorption Spectroscopy). Algunos autores consideran que no se puede incluir la preconcentración del hidruro en tubo de grafito dentro de este apartado debido a que la preconcentración del hidruro se produce después de que el vapor es liberado y transportado a la unidad de atomización (tubo de grafito). Para el caso del vapor frío se utilizan la amalgama y la deposición electrolítica como modos de preconcentración [3].

1.1. TÉCNICAS DE GENERACIÓN DE VAPOR ACOPLADO A AAS

La generación de vapor acoplada a espectroscopía de absorción atómica (VG-AAS, *Vapour Generation Atomic Absorption Spectroscopy*), es una técnica de determinación de elementos traza formadores de vapor que ha sido aplicada a un amplio rango de matrices [1].

Esta técnica ofrece grandes ventajas como son, entre otras, la separación del analito de matrices complejas, lo que reduce las interferencias; facilidad de automatización, límites de detección (LOD, *Limit of Detection*) y desviaciones estándares relativas (RSD, *Relative Standard Deviation*) competitivos ($0.1-0.3 \mu\text{g L}^{-1}$ y 1-3 % respectivamente), alta eficiencia en el transporte e introducción de la muestra, y escasa importancia de las interferencias espectrales.

En contrapartida esta técnica presenta una serie de desventajas como son la necesidad de pretratamiento de la muestra, el requerimiento de numeroso instrumental y parámetros químicos que optimizar, la posibilidad de interferencias químicas, la aplicabilidad a un número limitado de analitos capaces de generar vapor y un rango lineal limitado ($<10^3$) [4].

Dentro de los métodos de generación de vapor los más utilizados son la generación de hidruros y de vapor frío [5,6].

1.1.1. Generación de hidruros

La técnica de HG-AAS fue introducida en 1970 para solucionar los problemas asociados a la determinación de arsénico en AAS con llama (baja sensibilidad e interferencias causadas por la propia llama) [7].

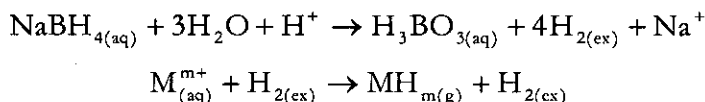
Hoy en día las determinaciones por HG-AAS incluyen hidruros de distintas especies metálicas As, Bi, Ge, Pb, Sn, Te, Se e incluso Tl e In [1,5,6].

La generación de hidruros con la consiguiente detección por AAS engloba 4 etapas principales [8]:

1. Generación del hidruro

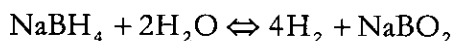
Los primeros métodos para la generación de arsina incluían la disolución de metales (Zn, Mg, Al) en ácidos minerales para formar H_2 nascente, el cual reacciona con As(III) para formar AsH_3 . Con los mismos fines fueron usados el $TiCl_3$ [9], $SnCl_2$ en HCl concentrado [10] o Al en medio básico, este último procedimiento conocido como reacción de Fleitmann [11].

La reacción con $NaBH_4$ ha ganado aceptación y ahora es usada universalmente para generar los hidruros. El mecanismo de formación del hidruro a partir de un metal se muestra a continuación [12]:



El uso de $NaBH_4$ como agente reductor presenta ventajas frente a otros reductores metálicos entre las que podemos citar: un rápido tiempo de reacción, es reductor muy enérgico, proporciona blancos bajos y se utiliza disuelto, por lo que se elimina la posible adsorción del vapor en el precipitado formado.

Por otra parte, presenta el inconveniente de que al ser un reductor tan enérgico, se hidroliza fácilmente en agua, por lo que es necesario el uso de hidróxido sódico o potásico para estabilizar la disolución. La reacción de hidrólisis se muestra a continuación:



2. Transferencia del hidruro

Se realiza mediante la introducción del vapor en una corriente de gas inerte de Ar, N₂ o He (gas de purga), el cual lo transporta por el tubo de transferencia hasta la unidad de atomización/medida. Dicho tubo puede ser de vidrio, plástico (polipropileno, politetrafluoroetileno) o goma de silicona.

3. Atomización del hidruro

- En llama de difusión gas inerte-hidrógeno

Para medidas en absorción atómica (AAS) y fluorescencia atómica (AFS), proporcionando esta última técnica mayor sensibilidad. Pueden ser de llama Ar-H₂ o llamas N₂-H₂.

- En celda de cuarzo (QAT, *Quartz Atomizer Tube*) calentadas externamente, donde el calor puede ser proporcionado por:

una llama

una resistencia eléctrica

- En celda de cuarzo con llama interna (FIT, *Flame In Tube*)

Se genera una llama H₂-O₂ en el interior del tubo donde tiene lugar la atomización del hidruro.

- En plasma de Ar

Para medidas en emisión atómica (AES).

4. Preconcentración del hidruro (si es necesario)

(a) En medios absorbentes como disoluciones de Ce

Se han utilizado distintos medios absorbentes líquidos y sólidos para atrapar y preconcentrar distintos hidruros como SbH_3 , AsH_3 , GeH_4 , SeH_2 , TeH_2 y SnH_4 . Este método es útil, cuando las muestras tienen que ser almacenadas durante algún tiempo antes de su determinación. Además, no es necesario un atomizador especial, por lo que el método analítico elegido dependerá del analista y podrá determinarse el hidruro mediante llama o bien en un horno de grafito. La desventaja que presenta es que consume mucho tiempo y existe riesgo de contaminación, lo que explica la escasa utilización de dicho método.

(b) Bajo presión

Se realiza en recipientes cerrados donde el hidruro es atrapado bajo la presión del hidrógeno naciente procedente de la descomposición del NaBH_4 . Este modo de preconcentración del hidruro fue muy utilizado en los años 70, pero en la actualidad es poco empleado debido a que otros métodos ofrecen mayor sensibilidad y a las posibles pérdidas de los hidruros menos estables.

(c) Bajo temperatura (trampa criogénica)

El atrapamiento criogénico del hidruro se realiza en una trampa fría que normalmente es un tubo de vidrio en U inmerso en N_2 líquido a través del cual el hidrógeno liberado en la reacción puede pasar libremente y no es atrapado dada su temperatura de ebullición. El hidruro atrapado es purgado al atomizador a través de un sistema abierto simultáneamente con la evaporación después de calentar la trampa.

(d) “In situ” en el interior de un horno de grafito (técnicas de generación de vapor acopladas a AAS con atomización electrotérmica, VG-ETAAS).

El uso de un horno de grafito calentado eléctricamente como medio de atrapamiento y atomización del hidruro ha permitido la determinación de hidruros en niveles de ng L^{-1} .

El primero en proponer esta técnica (HG-ETAAS) fue Drasch en 1980 para preconcentrar arsina en un horno de grafito y su posterior cuantificación por AAS [13]. Posteriormente, Lee determinó bismuto en muestras medioambientales y Sturgeon y col., publicaron una serie de artículos describiendo la determinación de As, Bi, Sb, Se y Sn principalmente en muestras de aguas de mar usando el horno de grafito como unidad de preconcentración y atomización del hidruro generado [14-16].

Esta técnica es considerada hoy en día como uno de los métodos más sensibles para la determinación de elementos traza [17] y ha sido aplicada a la mayoría de los elementos formadores de hidruros como As, Bi, Ge, In, Pb, Sb, Se, Sn y Te. Recientemente, esta técnica ha sido revisada en distintas publicaciones [3,5,6,18].

Las ventajas más atractivas de la HG-ETAAS son las siguientes [17]:

- (a) Gran sensibilidad absoluta a causa de la atomización electrotérmica; las masas características son más bajas que las obtenidas por transferencia directa en HG-AAS con un atomizador de tubo de cuarzo.
- (b) Alta sensibilidad relativa debido a la preconcentración “in situ” de grandes cantidades de muestra ofreciendo concentraciones características en un rango de ng L^{-1} .
- (c) Disminución o eliminación de las interferencias cinéticas e interferencias en el atomizador.
- (d) Resultados muy prometedores para el Ge, el cual es atomizado de forma ineficiente en un tubo de cuarzo calentado externamente.
- (e) Disponibilidad comercial de la instrumentación necesaria.
- (f) Automatización.
- (g) Aplicabilidad a otros sistemas químicos de generación de vapor como tetraetilplomo, tetracarbonilo de níquel, hidruro de tributilestaño, hidruros de dimetil y dietilselenio y técnica de vapor frío para Hg.

- (h) Posibilidad de especiación. Muchos métodos de separación-preconcentración seguidos de detección mediante ETAAS incluyen cromatografía de capa fina [19,20], precipitación o coprecipitación [21], columnas de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, *High Performance Liquid Chromatography*) [22], coordinación de las especies con moléculas orgánicas y extracción en disolventes orgánicos [23-25] o adsorción en superficies como resinas de intercambio iónico [26,27].

Los hidruros volátiles generados son atrapados más eficientemente en tubos de grafito precalentados y tratados con microgramos de Pd u otros metales nobles como Pt [16].

El Pd incrementa la eficiencia de atrapamiento de los distintos hidruros (As, Sb, Se, Bi, Ge, Te, Sn y Te) aumentando la sensibilidad y precisión de los métodos [16,28-30].

Los estudios comparativos dan preferencia al Pd sobre otros metales nobles (Pd > Pt > Rh > Ru o Pd > Ir, Pt), el cual además presenta una serie de ventajas [17]:

- (a) Alta eficiencia de atrapamiento.

La eficiencia de atrapamiento en un tubo de grafito se define como:

$$E_{\alpha} = \frac{A_1}{A_2} \times 100$$

donde A_1 es la señal de absorbancia obtenida mediante el procedimiento descrito para el atrapamiento "in situ" en un horno de grafito conteniendo distintos adsorbentes y A_2 es la respuesta obtenida por la inyección con un automuestreador de la misma cantidad de analito presente en la muestra, seguida por la inyección de la misma cantidad de absorbente usado para obtener la señal [11].

- (b) Baja temperatura de atrapamiento.
- (c) Pequeña cantidad de masa de modificador (<10 µg).

- (d) Mejora de las características de los métodos AAS con atomización electrotérmica para elementos volátiles.
- (e) Parámetros de los programas térmicos más uniformes y menos críticos para diferentes analitos, los cuales facilitan la cuantificación y el atrapamiento multielemental.

Sin embargo, el uso de tubos de grafito recubiertos con Pd presenta una desventaja debida a la alta volatilidad de este metal noble. Esto conlleva un acondicionamiento del tubo de grafito con la disolución modificadora de Pd antes de cada ciclo de atrapamiento, lo que implica una serie de inconvenientes, descritos por Shuttler y col. [31] como son complicaciones existentes en el hardware y software para llevar a cabo las medidas y el incremento del tiempo total del ciclo de medida, debido al pipeteo manual o automático de la disolución modificadora de Pd antes de cada ciclo de atrapamiento del hidruro, al lavado del capilar requerido para eliminar el Pd residual, al ciclo de secado y pirólisis para acondicionar el modificador, a la etapa de enfriamiento del atomizador requerida para poder introducir el hidruro y al cambio de programa entre acondicionamiento y atrapamiento.

Por todo ello, el uso de recubrimientos permanentes (Ir, Zr, W, Ta, Nb) es una alternativa al empleo de tubos recubiertos con Pd, si bien la sensibilidad proporcionada por éstos es menor.

1.1.2. Generación de vapor frío

La generación de vapor frío (CV) acoplada a AAS es la técnica de más éxito para la determinación de Hg por su simplicidad, alta sensibilidad y por estar libre de interferencias [32,33].

El diseño básico de un sistema CV-AAS es similar al de HG-AAS con los 4 mismos pasos: generación del vapor de mercurio, preconcentración (si es necesario), transferencia y detección con AAS [1].

La reducción de los compuestos de mercurio se obtiene usando SnCl_2 o NaBH_4 como agentes reductores [1].

La técnica de CV-AAS con amalgama permite la preconcentración pasando el vapor de mercurio generado por reducción a través de un medio amalgamado. Cu, Ag, Au y Pt son los metales usados para este propósito [34]. Con esta técnica se consigue determinar Hg en niveles de ng L^{-1} [12,17,35].

1.1.3. Otras técnicas de generación de vapor

La generación de cloruros y fluoruros volátiles de distintas especies metálicas (As, Bi, Cd, Ge, Mo, Pb, Sn, Ta y Zn), se realiza usando reactivos halogenados. El analito reacciona con cloruro de hidrógeno gas a cierta temperatura para formar el cloruro del metal volátil, el cual es transportado al atomizador por el gas portador [36]. Este método ha sido usado para determinar Si y As [37].

La generación de óxidos volátiles es un método usado para determinar elementos como Ru y Os. El uso de Ce(IV) como oxidante para producir RuO_4 a partir de soluciones de Ru(III) mejora la sensibilidad casi 60 veces a la hora de determinarlo con AAS con llama [38]. Un método similar fue empleado para generar el OsO_4 usando $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ como oxidante [39].

La generación química de carbonilos metálicos volátiles es empleada como una manera de introducción de la muestra para la determinación de Ni por AAS [40].

La preparación de quelatos volátiles es una técnica elegida para la determinación de Cr, Co y Fe mediante la formación de trifluoroacetilacetatos y transporte de los quelatos a un tubo de sílice calentado para su determinación mediante AAS [41].

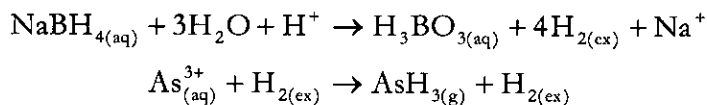
1.2.MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE AS, BI Y GE MEDIANTE HG-ETAAS

A continuación se resumen los métodos de determinación de As, Bi y Ge mediante HG-ETAAS propuestos en la bibliografía.

En general, los métodos se basan en la utilización de un agente reductor (NaBH_4 o SnCl_2) que en medios de reacción específicos consiguen la generación del vapor.

Arsénico

El mecanismo de formación del hidruro de arsénico a partir de As(III) en medio ácido y en presencia de NaBH_4 se muestra a continuación:



El hidruro así generado es atrapado en tubos de grafito recubiertos con distintas sustancias (Pd, Pt, Rh, Ru, Ir, etc.).

La bibliografía relativa al uso de Pd es muy amplia. Así, Sturgeon y col. [16] estudian la eficacia del atrapamiento de As, Se, Sn, Bi y Sb con distintos metales del grupo del Pt (Pd, Pt, Rh, Ru), eligiendo el Pd por su mayor eficiencia. Zhang y col. [28] obtuvieron similares resultados estudiando la eficiencia del atrapamiento de As, Sb y Se con Pd, Pt o Ir, eligiendo el Pd debido a su mayor sensibilidad. An y col. [42] también obtuvieron buenos resultados atrapando la arsina en tubos recubiertos con Pd incluso en presencia de metales interferentes como Ni o Pt, y Walcerz y col. [43] atraparon el hidruro de As y Sb en tubos recubiertos con Pd obteniendo buenas eficiencias de atrapamiento.

Además, se han propuesto mezclas de Pd con otros elementos, así, Shuttler y col. [31] proponen el recubrimiento con Pd/Ir para atrapar el hidruro de As, Se y Bi.

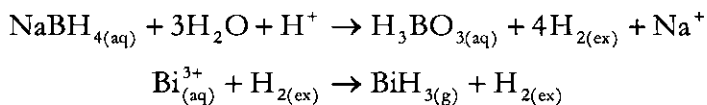
Posteriormente, debido a las desventajas del uso de Pd comentadas anteriormente, se propusieron recubrimientos permanentes como el Zr, el cual fue seleccionado por Garbós y col. [44] para la determinación de As y Se. Haug y Liao [45] estudiaron distintos recubrimientos tales como Zr, Nb, Ta, W, Ir, Pd/Ir e Ir/Mg para atrapar los hidruros de As, Sb y Bi obteniendo los mejores resultados para tubos de grafito recubiertos con Zr.

Tsalev y col. [17] estudiaron las mezclas Ir/Zr e Ir/W como recubrimientos permanentes, obteniéndose mejores resultados para esta última mezcla.

Finalmente, Murphy y col. [46] han propuesto tubos recubiertos con Ir para la determinación multielemento de elementos formadores de hidruros como son As, Bi, Sb y Se.

Bismuto

El mecanismo de formación del hidruro de Bi se muestra a continuación:



Al igual que en el caso del arsénico, los mejores resultados para atrapar el hidruro de Bi fueron obtenidos usando tubos recubiertos con Pd, después de compararlo con otros metales del grupo del Pt como Pd, Pt, Rh o Ru [16].

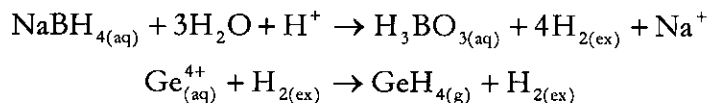
Doidge y col. [29] obtuvieron buenos resultados con tubos recubiertos con Pd para el atrapamiento de distintos metales incluido el Bi (As, Bi, Ge, Hg, Sb, Se, Sn y Te), así como Zhang y col. [47] quienes estudiaron el atrapamiento de Bi, Ge y Te con tubos recubiertos con Pd.

La mezcla con Pd/Ir fue estudiada por Shuttler y col. [31] para el atrapamiento del hidruro de As, Se y Bi.

El estudio de recubrimientos permanentes es escaso, el primero en proponer la mezcla Ir/Zr o Ir/W para el atrapamiento de Bi fue Tsalev y col. en 1995 [17]. Más tarde, Murphy y col. propusieron el recubrimiento de Ir para la determinación multielemental de As, Bi, Sb y Se [46].

Germanio

El mecanismo de formación del hidruro de Ge (análogo al los comentados anteriormente) se muestra a continuación:



La bibliografía referente al estudio de recubrimientos para el hidruro de Ge es escasa. Mayoritariamente se ha propuesto el Pd como recubrimiento, tal como se muestra en los trabajos de Doidge y col. [29], Tao y Fang [48], Zhang y col. [47] y Hilligsoe y Hansen [49].

Haug y Chonghua [50] estudiaron el recubrimiento de tubos de grafito con Pd y Pd/Mg obteniéndose mejores resultados con éstos últimos, y Zhang y col. [51] compararon los recubrimientos con Pd, Pd/Mg y Pd/Sr obteniéndose los mejores resultados con Pd/Sr.

Años más tarde Haug y Yiping [52] compararon tubos recubiertos con Pd con otros recubrimientos permanentes tales como Zr, Nb, Ta, W, Ir y mezclas con Pd/Ir e Ir/Mg obteniéndose los mejores resultados para tubos recubiertos con Zr.

Finalmente, en la **Tabla 1** se muestran a modo de resumen los límites de detección (LOD) y masas características (m_0) obtenidas por diferentes autores, utilizando tubos de grafito recubiertos con Pd y con distintos recubrimientos permanentes para el atrapamiento de los hidruros de As, Bi y Ge.

En el presente capítulo se desarrollan métodos para la determinación de As, Bi y Ge mediante HG-ETAAS. La optimización de dichos métodos se realiza utilizando diseños factoriales de Plackett-Burman para identificar las variables significativas en cada caso y diseños composicionales para obtener el óptimo de cada variable. Finalmente, se realiza un estudio comparativo de distintos recubrimientos permanentes para la determinación de dichos metales mediante HG-ETAAS.

Los métodos desarrollados se aplicarán posteriormente (capítulo 5) a muestras reales de agua de mar y agua termal, así como a extractos ácidos de muestras de carbones, cenizas, escorias y coques.

Tabla 1. Características analíticas para los distintos recubrimientos

Elemento	Recubrimiento	LOD	mo/pg	Ref.
As	Pd	43 pg	23	[16]
As	Pd	-	10	[28]
As	Pd/Ir	-	45	[31]
As	Pd	36 pg	10	[42]
As	Pd	25 pg	69	[43]
As	Zr	92 pg	43	[44]
As	Zr	0.015 ng mL ⁻¹	16	[45]
As	Ir/Zr	-	30	[17]
As	Ir/W	-	44	[17]
As	Ir	107 pg	178	[46]
Bi	Pd	-	16	[29]
Bi	Pd	-	28	[47]
Bi	Pd	32 pg	34	[16]
Bi	Pd/Ir	-	76	[31]
Bi	Zr	0.027 ng mL ⁻¹	9	[45]
Bi	Ir/Zr	-	176	[17]
Bi	Ir/W	-	180	[17]
Bi	Ir	43 pg	91	[46]
Ge	Pd	17 pg	12	[29]
Ge	Pd	30 pg	40	[50]
Ge	Pd	-	49	[48]
Ge	Pd	0.21 µg L ⁻¹	26	[49]
Ge	Pd	-	26	[47]
Ge	Pd/Mg	-	55	[52]
Ge	Pd/Sr	23 pg	29	[51]
Ge	Zr	-	170	[52]

2.MATERIAL, INSTRUMENTAL Y REACTIVOS

2.1 MATERIAL E INSTRUMENTAL

- Espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer modelo 4100 equipado con una cámara de grafito de calentamiento longitudinal HGA-700, sistema corrector de fondo de Deuterio e inyector automático AS-70.
- Lámpara de cátodo hueco de arsénico Perkin-Elmer.
- Tubos de grafito pirolítico Perkin-Elmer, de calentamiento longitudinal provistos de plataforma de L'vov.
- Espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer modelo Analyst 800 equipado con una cámara de grafito de calentamiento transversal, un sistema por inyección en flujo FIAS 400, sistema de corrección Zeeman e inyector automático AS-800.
- Lámparas de descarga sin electrodos de As, Bi y Ge Perkin-Elmer.
- Tubos de grafito pirolítico Perkin-Elmer, de calentamiento transversal y plataforma integrada.
- Tubo de transferencia del vapor generado al horno; consistente en un capilar de cuarzo (de 2 cm longitud x 1.33 mm diámetro externo x 0.5 mm diámetro interno), unido a la parte metálica con una pequeña pieza de goma en forma de tubo la cual se une a un tubo de PTFE. El soporte metálico del tubo de transferencia de muestra del horno al sistema en continuo, se engancha con una pequeña pinza al final del brazo automuestreador (**Figura 1**).

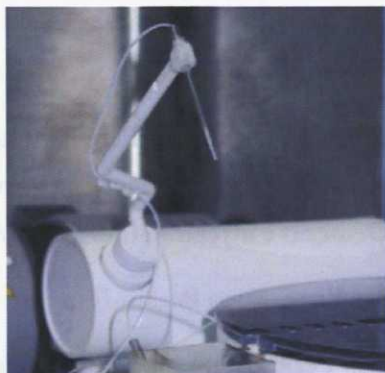


Figura 1. Tubo de transferencia del vapor

- Bomba peristáltica de 4 canales (Minipuls 3, Gilson, Villiers le Bel, Francia) usada en un sistema continuo de generación de vapor que utiliza un separador gas-líquido tipo B.
- Sistema de depuración de agua Milli-Q, (Millipore) de $18 \Omega \text{ cm}^{-1}$ de resistencia específica. Bedford, USA.

2.2 REACTIVOS

- Disolución estándar de cloruro de arsénico (III) de 1000 mg L^{-1} para absorción atómica, suministrada por Panreac, Barcelona, España.
- Disolución de arsénico (V) de 1000 mg L^{-1} preparada a partir de $\text{NaHAsO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$, 98.5% para absorción atómica, suministrada por Merck, Darmstad, Alemania.
- Disolución de bismuto de 1000 mg L^{-1} para absorción atómica, suministrada por Panreac.

- Disolución de germanio de 995 mg L⁻¹ para absorción atómica, suministrada por Aldrich, Chemical Company, Inc. Milwaukee, USA.
- Borohidruro sódico para síntesis (Merck) disuelto en 0.5% m/v de hidróxido sódico preparado diariamente (Panreac).
- Ácido clorhídrico comercial para análisis del 37% (Panreac).
- Ácido nítrico comercial para análisis del 60% (Panreac).
- Ácido fluorhídrico del 48-51% suministrado por Deventer, Holanda.
- Disolución de Ir, 2.5 g L⁻¹ preparada a partir de IrCl 99.9%, Aldrich, Gillingham, Dorset. Reino Unido.
- Disolución de Nb, 5 g L⁻¹ preparada a partir de polvo de Nb 99.9%, Aldrich. Para preparar esta disolución se digirió con 1 mL de HNO₃, 1 mL de HCl y 1 mL de HF y se aplicó el programa de temperaturas del horno microondas consistente en 3 etapas; una primera a 300W durante 5 minutos, otra a 650W durante 3 minutos y finalmente una a 450W durante 3 minutos. El volumen final fue de 10 mL.
- Disolución de W, 2.5 g L⁻¹ preparada a partir de WO₄Na₂·2 H₂O, Panreac.
- Disolución de Zr, 2.5 g L⁻¹ preparada a partir de ZrOCl₂·8 H₂O 99.98%, Aldrich.
- Disolución de La, 2.5 g L⁻¹ al 7.6% (m/v) en HNO₃ preparada a partir de La₂O₃ 98%, Panreac.
- Suspensión de BeO, 2.5 g L⁻¹ al 7.6% (m/v) en HNO₃ y 3.7% (m/v) en HCl preparada a partir de BeO 99.99%, Aldrich.
- Suspensión de Cr₂O₃, 2.5 g L⁻¹ al 7.6% (m/v) en HNO₃ y 3.7% (m/v) en HCl preparada a partir de Cr₂O₃ 99.995%, Aldrich.
- Suspensión de TaC, 2.5 g L⁻¹ al 7.6% (m/v) en HNO₃ y 3.7% (m/v) en HCl preparada a partir de TaC 99%, Aldrich.

- Suspensión de VC, 2.5 g L⁻¹ al 7.6% (m/v) en HNO₃ y 3.7% (m/v) en HCl preparada a partir de polvo de VC, Aldrich.
- Suspensión de Cr₃C₂, 2.5 g L⁻¹ al 7.6% (m/v) en HNO₃ y 3.7% (m/v) en HCl preparada a partir de polvo de Cr₃C₂, Aldrich.
- Disolución estándar de U de 1000 ng L⁻¹ suministrada por Panreac.
- Disolución estándar de Ta de 1000 ng L⁻¹ suministrada por Panreac.
- Filtros de papel, Whatman International. Ltd, Maidstone (Reino Unido).
- Materiales de referencia acuosos: NRC-CNRC CASS-3 (*Nearshore Seawater Reference Material for Trace Metals*) y NRC-CNRC SLRS-4 (*Reverie Water Reference material for Trace Metals*) del National Research Council of Canada. NIST SRM 1643d (*Trace Elements in Water*) del National Institute of Standards and Technology, USA y CRM TM-24 del National Water Research Institute.
- Materiales de referencia de carbón y derivados: NIST SRM 1632b y 1632c (*Trace Elements in Coal (Bituminous)*), del National Institute of Standards and Technology, USA y NBS SRM 1633a y 1633b (*Trace Elements in Coal Fly Ash*), del National Bureau of Standards, USA.
- Material de referencia de suelo CRM GBW 07401 del National Research Council of Reference Materials, China.

3.OPTIMIZACIÓN DE LOS MÉTODOS DE HG ACOPLADOS A ETAAS

3.1.INTRODUCCIÓN

La aplicación de los métodos de optimización en la Química Analítica ha cobrado interés en la última década [53,54]. Así, distintos métodos de optimización se han utilizado para determinar metales en distintas muestras medioambientales.

Pergantis y col. [55] utilizan el Simplex para determinar As en muestras de origen marino y Hilligsoe y col. [49] determinan Ge aplicando diseños factoriales y la optimización simplex.

La aplicación de diseños factoriales ha sido ampliamente utilizada para determinar diversos metales Pb mediante ETAAS [56] o Se, mediante HG-QFAAS [57,58]. Vázquez y col. determinaron metilmercurio mediante cromatografía de gases (GC, *Gas Chromatography*) optimizando el procedimiento de extracción mediante diseños factoriales a dos y tres niveles [59], mientras que Bermejo-Barrera y col [60] aplicaron diseños factoriales de Plackett-Burman para la determinación de Cd, Cr, Hg, Pb y Se en pelo humano. Lavilla y col. [61] utilizan diseños factoriales saturados para optimizar un método de digestión de aguas residuales.

3.1.1.Diseños de experiencias en Química Analítica

Actualmente, la estadística es una herramienta fundamental para interpretar los resultados obtenidos a partir de un método analítico, así como para determinar las variables más importantes del mismo y su posible optimización.

Se entiende por optimización el proceso de búsqueda y localización del conjunto de valores de las variables independientes que producen el mejor resultado en un proceso de determinación analítica o, en su caso, un proceso de producción [62].

La optimización no es un concepto nuevo; históricamente se ha utilizado una técnica de aproximación que siendo lógica y aparentemente fácil de ejecutar, presenta numerosos inconvenientes, consistente en fijar todas las variables que afectan al sistema menos una, y empezando en algún punto del campo experimental que normalmente se elige en base a nuestros conocimientos previos sobre el sistema o, en el peor de los casos por intuición, se trata de evaluar el efecto de cada variable efectuando experimentos en los que solamente una de ellas puede ser variada. A continuación, estableciendo previamente los valores de partida, se realizan un número de experimentos variando la variable que no hemos fijado y seleccionando el valor que produzca el mejor resultado para ella. Se realiza lo mismo con todas las variables hasta que el proceso de búsqueda nos produzca un resultado no mejorable.

Este procedimiento, llamado *clásico* o *univariante* presenta varios inconvenientes como son que se necesitan muchos experimentos (es decir, costo y tiempo) para averiguar la situación del óptimo en nuestro procedimiento. Otro inconveniente es que al seleccionar las variables no siempre disponemos de suficiente información como para afirmar que son independientes, es decir, que no existen interacciones entre ellas. Si las variables interaccionan, la técnica no puede utilizarse, puesto que no será cierto que una de ellas permanece constante mientras modificamos los valores de la otra.

En contraposición la aproximación *multivariante* permite estudiar todas las variables que pueden o no interaccionar entre sí.

Estos estudios se pueden realizar desde dos puntos de vista. Por un lado los denominados de tipo analítico, en los que se quiere conseguir una descripción matemática suficientemente aproximada del sistema a estudiar (una ecuación) como para evaluar la localización del óptimo por derivación de dicha función. Las metodologías experimentales pertenecientes a este grupo (*diseños de experiencias*), utilizan diseños en los que todos los experimentos se planifican con anterioridad a su realización, los métodos de este tipo se denominan de tipo simultáneo. Por otra parte

están los denominados de caja negra, concepto derivado de la teoría de sistemas en el que asumimos un desconocimiento casi total del sistema aunque sabemos que tiene entradas (valores de las variables) y salidas (respuestas, resultados). En este caso, se diseñan estrategias consistentes en establecer cada experimento tras la evaluación de los resultados de los experimentos anteriores. Por ello, los métodos de este grupo (*como el simplex geométrico*) se denominan de tipo secuencial.

En este trabajo utilizaremos los *diseños de experiencias*, los cuales se pueden clasificar en:

- *Diseños factoriales* o *diseños completos de clasificación cruzada*. Se obtiene la respuesta en función de todas las combinaciones posibles de niveles, cruzando los factores o variables.
- *Fracciones factoriales* o *diseños incompletos de clasificación cruzada*. Se escogen ciertas combinaciones de todas las posibles en un diseño factorial. Estos diseños evitan el gran número de observaciones que requieren los diseños factoriales a muchos niveles y factores.
- *Diseños de clasificación jerárquica*. En ellos los factores están jerarquizados entre sí, por lo que no pueden existir interacciones entre ellos. Se utilizan en los casos en que existan factores que solo puedan observarse para valores fijos de otros, por lo que carecería de sentido cruzarlos.
- *Diseños mixtos*. Donde se mezclan clasificaciones cruzadas y jerárquicas.

Los diseños factoriales en los que se consideran todas las variables y se cruzan a varios niveles, permiten estimar la interacción entre variables. Además, cuando existe error experimental, permiten obtener medidas más precisas de los efectos de las mismas.

Por otro lado, los diseños de experiencias se pueden emplear como una herramienta para obtener las condiciones óptimas de un sistema a través de su superficie de respuesta. La *metodología de superficies de respuesta* (técnica empleada en este

trabajo), es una colección de técnicas matemáticas y estadísticas útiles en el modelado y el análisis de problemas en los que una respuesta de interés recibe la influencia de diversas variables y donde el objetivo es optimizar la respuesta [63]. Una superficie de respuesta es, la representación gráfica de la respuesta en función de uno o más factores e indica los valores óptimos para cada variable del sistema, es decir, si tenemos una variable respuesta e influenciada por los factores x_1 y x_2 , de tal forma que, se puede poner $y=f(x_1,x_2)+e$, siendo e el error en la respuesta, la superficie representada por $\eta=E(y)=f(x_1,x_2)$ se denomina superficie de respuesta. Si representamos η contra los niveles de los factores x_1 y x_2 se obtiene la gráfica de la superficie de respuesta. Para ayudar a visualizar la forma de una superficie de respuesta, con frecuencia se grafican los contornos de la superficie de respuesta (curvas de nivel de la superficie). En dicha gráfica se trazan las líneas de respuesta constante en el plano x_1,x_2 . Cada contorno corresponde a una altura particular de la superficie de respuesta.

En la mayoría de los casos no se conoce la relación funcional entre la variable respuesta y las variables independientes, lo que conlleva a comenzar la tarea determinando mediante métodos matemáticos una aproximación apropiada para dicha relación. Por lo general se emplea un polinomio de orden bajo sobre alguna región de las variables independientes. Pero hay que tener presente que el objetivo de los diseños de superficie de respuesta consiste en determinar las condiciones de operación óptima para un sistema, hallando la región del espacio de los factores en la que se satisfacen las condiciones de operación.

3.1.2.Diseños factoriales

Para realizar un diseño factorial completo, se seleccionan un cierto número de niveles para cada factor (variable) y luego se realizan los experimentos con todas las combinaciones posibles de factores [64]. Dentro de estos diseños, los más sencillos y generalmente más utilizados son los que tienen n factores y cada uno de ellos con dos niveles, uno superior (+) y otro inferior (-).

El *diseño factorial completo a 2 niveles* es el método más habitual de diseño factorial y en él se dan 2 valores a cada variable a ambos lados de un valor básico o central. El número de combinaciones de valores de los n factores es $N=2^n$. A partir de los diseños factoriales a 2 niveles se pueden realizar diseños factoriales parciales. La construcción de la matriz de un diseño 2^n es muy sencilla y no requiere ningún cálculo. Las columnas (una para cada factor) se construyeron alternando los niveles alto y bajo. En la primera columna cada nivel se repite 2^0 veces, en la segunda 2^1 y así hasta llegar a 2^{n-1} . En general, la columna i -ésima consistirá en 2^{i-1} signos negativos seguidos de 2^{i-1} signos positivos. Aunque no existe un límite teórico de factores a estudiar, a medida que aumentan éstos, lo hacen los experimentos a realizar, con lo que el proceso pierde eficacia y no mejora la información requerida, sino que se hace redundante, debido a que muchos de los coeficientes obtenidos (sobre todo los de las interacciones de orden superior) no tienen significado estadístico.

En estos casos no es necesario realizar los $N=2^n$ experimentos del factorial completo. Las interacciones son despreciables y solamente necesitamos realizar una parte del factorial completo. Estos *factoriales parciales* son útiles en zonas alejadas del óptimo.

En regiones próximas al óptimo resulta necesario utilizar polinomios de mayor grado para ajustar la superficie de respuesta. Para poder estimar los coeficientes de un polinomio de segundo grado el experimento debe diseñarse de forma que contenga tres niveles para cada una de las variables independientes (factores), inferior (-), intermedio (0) y superior (+). Un *experimento factorial completo a 3 niveles* implica usualmente un gran número de mediciones (p.ej. para 5 variables $N=3^5=243$ experimentos) [63].

Sin embargo, es posible disminuir el número de experimentos utilizando un *diseño experimental compuesto*, el cual consiste en:

- Un experimento factorial completo a 2 niveles para $n \leq 5$, y un experimento factorial parcial 2^{n-1} para $n > 5$ (n =número de variables a estudiar).

- $2n$ puntos experimentales, los cuales se sitúan a una distancia x desde el centro (el nivel fundamental).
- K_0 puntos experimentales en el centro del diseño.

En consecuencia el número de mediciones (experimentos) será:

$$N=2^n+2n+K_0 \quad \text{para } n \leq 5$$

$$N=2^{n-1}+2n+K_0 \quad \text{para } n > 5$$

Estos diseños son rotatables, es decir, la varianza de la respuesta predicha es constante a la misma distancia del centro del diseño. Las predicciones del modelo tienen la misma precisión para todos los puntos que se encuentren a igual distancia del centro del diseño. Normalmente, en vez de usar la función de varianza se suele usar la de información, que es su inversa, y nos da la aptitud de un diseño para estimar la respuesta.

En la construcción de este diseño, debe tener solución y ser única, para ello basta con que la matriz que nos indica las características de cada uno de los experimentos tenga inversa. El valor de x se selecciona de manera que se asegure la ortogonalidad de los resultados experimentales, así la matriz es diagonal y, por lo tanto, tiene inversa y solución única [64].

3.1.3. Diseños factoriales de Plackett-Burman

A continuación se realiza una breve explicación de los diseños de experiencias de Plackett-Burman, metodología empleada en este trabajo.

Cuando un sistema es poco conocido, resulta muy difícil decidir cuales son las variables que debemos considerar a la hora de optimizarlo. Algunas de esas variables pueden resultar evidentes pero, no podemos descartar que otras, menos aparentes no tengan influencia en la superficie de respuesta. La solución más obvia sería considerarlas todas, pero entonces, el número de experimentos hace inviable en la práctica la aplicación de factoriales completos.

Entre los procedimientos que permiten abordar este problema de una manera eficaz, uno de los más interesantes son los diseños de Plackett-Burman que, basados en una extensión del sistema estadístico de los cuadrados latinos, no solo reduce enormemente el número de experimentos a realizar sino que también produce otros datos de gran utilidad.

En este método, la matriz de diseño se construye partiendo de una primera fila dada en el trabajo original de Plackett-Burman [65] en el que están disponibles los diseños para 8, 12, 16, etc. variables en bloques de cuatro hasta cien. Esta primera fila, llamada generador, se va desplazando cíclicamente en una posición, N-2 veces, hasta completar la matriz, cuya última fila está formada completamente por valores (-). Algunos de estos generadores se muestran en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Generadores de la matriz de los diseños Plackett-Burman

Experiencias	Generador
N = 8	+ + + - + - -
N = 12	+ + - + + + - - - + -
N = 16	+ + + + - + - + + - - - -
N = 20	+ + - - + + + + - + - - - + + -
N = 24	+ + + + + - + - + + - - + + - - -
N = 32	- - - - + - + - + + + - + + - - + + + + - - + + - - +
N = 44	+ + - - + - + - - + + + - + + + + - - - + - + + - - - - + - - - + - + - + - + -

La construcción de estas matrices es extremadamente sencilla si se dispone de la primera fila, aunque hay que hacer notar que no existen matrices de este tipo para cualquier número de variables y experimentos, sino que se debe cumplir siempre que N sea un múltiplo de 4, simplemente porque en muchos casos es imposible mantener las características de ortogonalidad. Para mantener dicha característica, el número de + y - debe ser el mismo. En el caso de que el número de variables no sea el adecuado para construir el experimento, se debe considerar aquel más próximo, completándolo

con variables asociadas a efectos falsos, llamadas *fantasma*, que sin tener influencia en el experimento, tampoco estorbarán a la hora de efectuar las experiencias. Sin embargo, estas variables tendrán sus coeficientes como las demás que podremos evaluar al final. Así, por ejemplo, si el sistema tiene cuatro variables, el diseño menor que se puede aplicar es $N=8$ y por tanto se añadirán tres variables *fantasma*.

Al reducir el número de experimentos respecto del factorial completo se pierden grados de libertad y ello provoca un efecto de “confusión” para cada variable respecto a los términos de interacción. Esto mismo ocurrirá con las variables falsas y, por lo tanto, el coeficiente evaluado para ellas también incluirá efectos de interacción de las demás [63]. En este sentido, y con objeto de simplificar el tratamiento de los datos, no se van a considerar las interacciones entre variables mayores de orden dos, pues es lo habitual en la bibliografía al respecto.

En teoría, el coeficiente asociado a una variable falsa deberá ser cero o un valor muy pequeño. De esta manera, la evaluación de estos coeficientes nos proporciona información muy valiosa:

- La confirmación de hasta que punto la suposición de que las interacciones son despreciables resulta cierta o no.
- Un medio de evaluar los errores puramente experimentales, en el caso en que no existan interacciones.

En nuestro estudio, la matriz nos la proporciona el paquete estadístico Statgraphics Plus 4.0.

3.2. IDENTIFICACIÓN DE LAS VARIABLES SIGNIFICATIVAS

En el presente apartado se aborda el estudio de las variables que resultan significativas para el desarrollo de los métodos de determinación de As, Bi y Ge mediante HG-ETAAS.

En el caso del As, dicho estudio se lleva a cabo en un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer modelo 4100, mientras que para el Bi y Ge se utiliza un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer modelo Analyst 800. El modelo 4100 (de calentamiento longitudinal) carece de sistema de inyección en flujo (FIAS), por lo que se utiliza un sistema en flujo continuo construido en el laboratorio para generar la arsina (**Figura 2**).

Dicha generación se realizará a partir de las especies inorgánicas del arsénico (As(III) y As(V)).

La muestra, el ácido clorhídrico y el borohidruro sódico son introducidos en el sistema a través de una bomba peristáltica y bombeados a través del bucle de reacción donde tendrá lugar la reacción de la arsina. El bucle de reacción está anudado (*Knotted coil*) para favorecer la reacción de generación del hidruro. La mezcla resultante pasa al separador en U donde tiene lugar la separación del hidruro, que es arrastrado por una corriente de Ar, del líquido resultante de la reacción de generación. El capilar de cuarzo se introduce en el tubo de grafito recubierto con Zr mientras el hidruro arrastrado por la corriente de Ar se deposita en el centro de la plataforma del tubo donde será preconcentrado y atomizado.

Los tubos de aspiración de la disolución portadora (HCl) y reductora (NaBH_4), así como el de aspiración de la muestra son tubos de acetato de etilenvinilo (Tygon®), mientras que el bucle de reacción y el tubo de transferencia son de politetrafluoretileno (PTFE).

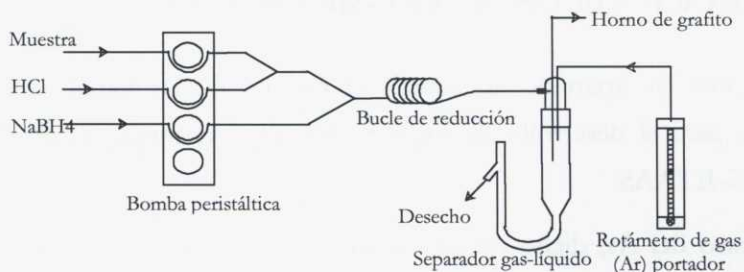


Figura 2. Diagrama esquemático del sistema en flujo continuo utilizado para la generación del hidruro de As

Por el contrario, para la determinación de Bi y Ge con el equipo Aanalyst 800 se utiliza un generador de vapor por inyección en flujo (FIAS 400) el cual se muestra en la **Figura 3**.

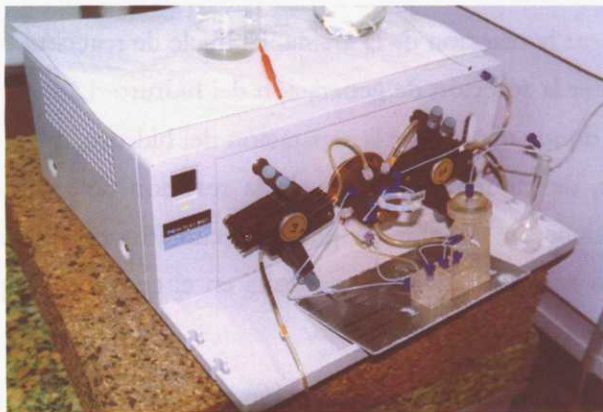


Figura 3. FIAS 400 utilizado para la generación del hidruro de Bi y Ge

El sistema FIAS 400 está provisto de dos bombas peristálticas de doble canal, cuya velocidad de rotación es controlada mediante un ordenador. Además, está provisto de un separador gas-líquido de membrana de PTFE. En la **Tabla 3** se muestra el programa del FIAS utilizado.

Durante la etapa de prellenado y la etapa 1, están en funcionamiento las bombas 1 y 2 a 100 rpm, con lo que se consigue el llenado completo de todas las conducciones del sistema, así como del bucle de muestra. Este proceso dura 15 segundos, a partir de los cuales comienza la etapa 2, en la que la bomba 2 reduce su velocidad disminuyendo a su vez el consumo de reactivos. Al mismo tiempo, el brazo automuestreador se está moviendo hacia el horno de grafito. Finalmente, durante la etapa 3 la bomba 1 para, y la válvula cambia de posición desde *llenado* hasta *inyección*, con lo que simplemente se elimina el desecho líquido producido, al mismo tiempo que, se produce el atrapamiento del vapor generado durante 30 s (variando éste según el recubrimiento elegido). Una vez finalizado el proceso de atrapamiento del hidruro, el brazo del automuestreador es retirado del horno de grafito comenzando a continuación el programa de temperaturas que conduce a la atomización de dicho hidruro.

Los tubos de aspiración de la disolución portadora (HCl) y reductora (NaBH_4) son tubos de acetato de etilenvinilo (Tygon®), mientras que el bucle de reacción, el de aspiración de la muestra (de 500 μL), los tubos por los que se transporta la disolución hasta que llega al separador y el tubo de transferencia son de politetrafluoretileno (PTFE).

Tabla 3. Programa del FIAS 400

Etapas	Tiempo/s	Velocidad B ₁ /rpm	Velocidad B ₂ /rpm	Válvula		Lectura
Prellenado	5	100	100	F ●	I ⊙	No
1	10	100	100	F ●	I ⊙	No
2	5	100	80	F ●	I ⊙	No
3	30	0	80	F ⊙	I ●	Sí

En la **Tabla 4** se muestran las condiciones de atrapamiento y atomización del programa utilizado. Las temperaturas de atrapamiento y atomización variarán en función del recubrimiento elegido.

Tabla 4. Condiciones de atrapamiento y atomización

Etapas	Temperatura /°C	Rampa/s	Permanencia/s	Caudal de Ar/mL min ⁻¹
Atrapamiento	1000	1	30(Variable)	250
Atomización	2500	0	5	0 (lectura)
Limpieza	2300	1	3	250

Los estudios realizados para la generación del arsénico fueron hechos con anterioridad a la adquisición del equipo Aanalyst 800, pero debido a que las condiciones de generación del hidruro son independientes del equipo utilizado, estos estudios no se repitieron para dicho equipo.

Seguidamente se abordan cada uno de estos estudios, empleando para ello las condiciones instrumentales mostradas en la **Tabla 5**. Por otra parte, para el atrapamiento en el tubo de grafito del hidruro generado se utilizan los recubrimientos permanentes más citados en la bibliografía que resultaron ser el Zr para el hidruro de As y el Ir para el hidruro de Bi y Ge [44-46]. Estos estudios se llevarán a cabo utilizando patrones acuosos de 50 µg L⁻¹ de As y 10 µg L⁻¹ de Bi y Ge y muestras de

agua de mar y agua termal. En el caso del As, estos estudios se realizan para el As(III) y As(V).

Tabla 5. Condiciones instrumentales para la determinación de As, Bi y Ge

Condiciones instrumentales	As*	Bi	Ge
Longitud de onda/nm	193.7	223.1	265.1
Rendija/nm	0.7	0.2	0.2
Intensidad de corriente/mA	380	380	310

*Espectrofotómetro 4100

Como se ha mencionado en el apartado anterior, para identificar las variables críticas en la generación del hidruro se usaron los diseños de experiencias de Plackett-Burman. En este trabajo se ha optado por un diseño de ocho variables con tres grados de libertad para el caso del As y nueve variables con dos grados de libertad para el caso del Bi y Ge, con lo que al ser a dos niveles resultan doce experiencias en todos los casos.

A la hora de plantear el diseño de experiencias es necesario elegir las variables a estudiar teniendo en cuenta su posible influencia sobre el resultado final del análisis. En este sentido las concentraciones y los caudales del medio ácido utilizado (HCl) y de reductor (NaBH_4), así como la longitud del bucle de reacción, tienen un papel destacado en ambos diseños, ya que de ellos dependerá la generación del hidruro correspondiente. En la generación de la arsina con el espectrofotómetro 4100, se utilizó un sistema continuo de generación del hidruro, el cual carecía de sistema de control de gas portador (argon), por lo que no se incluyó su estudio en el diseño, mientras que para el caso del Bi y Ge sí se incluyó, ya que el FIAS 400 cuenta con un rotámetro para el control de dicho caudal. Para estos dos analitos, las temperaturas de atrapamiento y atomización y el tiempo de atrapamiento fueron también incluidas en el diseño con el objetivo de seleccionar las variables significativas implicadas en el

proceso global: generación del vapor, preconcentración en el interior del tubo de grafito y atomización del hidruro.

El caudal de muestra que se utilizará viene dado por las características de las bombas peristálticas utilizadas y tendrá un valor fijo que será de 1.8 mL min^{-1} para los estudios realizados con el espectrofotómetro 4100 y 0.5 mL min^{-1} para los realizados en el espectrofotómetro Analyst 800.

Las **Tablas 6 y 7** recogen las variables que se han considerado en el estudio, así como los dos niveles elegidos, seleccionados a partir de posibles limitaciones instrumentales y datos bibliográficos consultados.

Las variables F, G y H de la **Tabla 6** son las llamadas variables fantasma, que sin tener influencia en los experimentos son necesarias para poder realizar en este caso un diseño de Plackett-Burman con 8 variables.

Tabla 6. Variables seleccionadas para el diseño Plackett-Burman correspondiente a la generación del hidruro de As*

Código	Variable	Bajo(-)	Alto(+)
A	Concentración HCl/M	0.5	5
B	Concentración NaBH_4 /%(m/v)	0.25	2
C	Caudal HCl/ mL min^{-1}	0.78	1.80
D	Caudal NaBH_4 / mL min^{-1}	0.78	1.80
E	Longitud bucle/m	0.5	2
F	Variable fantasma	-	-
G	Variable fantasma	-	-
H	Variable fantasma	-	-

*Espectrofotómetro 4100

Tabla 7. Variables seleccionadas para el diseño Plackett-Burman correspondiente a la determinación de Bi y Ge

Código	Variable	Bajo(-)	Alto(+)
A'	Concentración HCl/M	0.1	3
B'	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	0.2	2
C'	Caudal HCl/mL min ⁻¹	5	9
D'	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	5	9
E'	Temperatura atrapamiento/°C	20	1000
F'	Temperatura atomización/°C	1500	2500
G'	Tiempo atrapamiento/s	10	30
H'	Longitud bucle/m	0.1	1
I'	Caudal argon/mL min ⁻¹	50	100

El diseño utilizado para la generación de la arsina fue un Plackett-Burman $2^{8*3}/64$ el cual implica 12 experiencias (**Tabla 8**) y 3 grados de libertad, mientras que para Bi y Ge se utilizó un diseño Plackett-Burman $2^{9*3}/128$ el cual implica 12 experiencias (**Tabla 9**) y 3 grados de libertad.

Las matrices resultantes de los diseños experimentales planteados se muestran en las **Tablas 8 y 9**.

Tabla 8. Matriz de diseño experimental resultante de las condiciones seleccionadas para la generación del hidruro de As*

Experiencia	Variables							
	A	B	C	D	E	F	G	H
1	+	-	+	-	-	-	+	+
2	+	+	-	+	-	-	-	+
3	-	+	+	-	+	-	-	-
4	+	-	+	+	-	+	-	-
5	+	+	-	+	+	-	+	-
6	+	+	+	-	+	+	-	+
7	-	+	+	+	-	+	+	-
8	-	-	+	+	+	-	+	+
9	-	-	-	+	+	+	-	+
10	+	-	-	-	+	+	+	-
11	-	+	-	-	-	+	+	+
12	-	-	-	-	-	-	-	-

*Espectrofotómetro 4100

A continuación se llevan a cabo todas las experiencias del diseño de acuerdo a la matriz correspondiente y se obtienen los resultados que se recogen en la **Tabla 10**.

Tabla 9. Matriz de diseño experimental resultante de las condiciones seleccionadas para la determinación de Bi y Ge

Experiencia	Variable								
	A'	B'	C'	D'	E'	F'	G'	H'	I'
1	+	-	+	-	-	-	+	+	+
2	+	+	-	+	-	-	-	+	+
3	-	+	+	-	+	-	-	-	+
4	+	-	+	+	-	+	-	-	-
5	+	+	-	+	+	-	+	-	-
6	+	+	+	-	+	+	-	+	-
7	-	+	+	+	-	+	+	-	+
8	-	-	+	+	+	-	+	+	-
9	-	-	-	+	+	+	-	+	+
10	+	-	-	-	+	+	+	-	+
11	-	+	-	-	-	+	+	+	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 10. Resultados de los diseños experimentales

Experiencia	Absorbancia			
	As(III)*	As(V)*	Bi	Ge
1	0.105	0.043	0.214	0.001
2	0.026	0.042	0.184	0
3	0.131	0.083	0.338	0
4	0.122	0.031	0.150	0.008
5	0.088	0.063	0.363	0.001
6	0.146	0.097	0.262	0.123
7	0.122	0.013	0.270	0.008
8	0.116	0.047	0.274	0
9	0.078	0.015	0.025	0.018
10	0.105	0.059	0.188	0.013
11	0.139	0.047	0.239	0.001
12	0.092	0.023	0.053	0.001

*Espectrofotómetro 4100

Una vez obtenida la variable respuesta para cada caso (absorbancia), sus valores se introducen en el diseño Plackett-Burman elegido obteniéndose la información necesaria para evaluar la importancia de cada una de las variables.

Este análisis se realiza con ayuda de las cartas Pareto. En estas cartas, la longitud de las barras es proporcional al valor absoluto del efecto estimado, lo que indica la importancia de cada variable. Además, en estas gráficas se muestra una línea que representa el mínimo valor de “t” (3.2 y 4.2) para el 95% de confianza a partir del cual se considera que las variables son significativas. Este valor de “t” se denomina $t_{\text{crítico}}$.

En la **Figura 4** se muestran las cartas Pareto de primer orden para las variables objeto de estudio en la generación de los hidruros de As, Bi y Ge obtenidas utilizando el paquete estadístico Statgraphics Plus 4.0.

Como se observa en la **Figura 4**, para el As(III) y el Ge ninguna variable resultó significativa, ya que los efectos de las variables son bajos y no sobrepasaron el valor de $t_{\text{crítico}}$ (3.2 y 4.3 respectivamente).

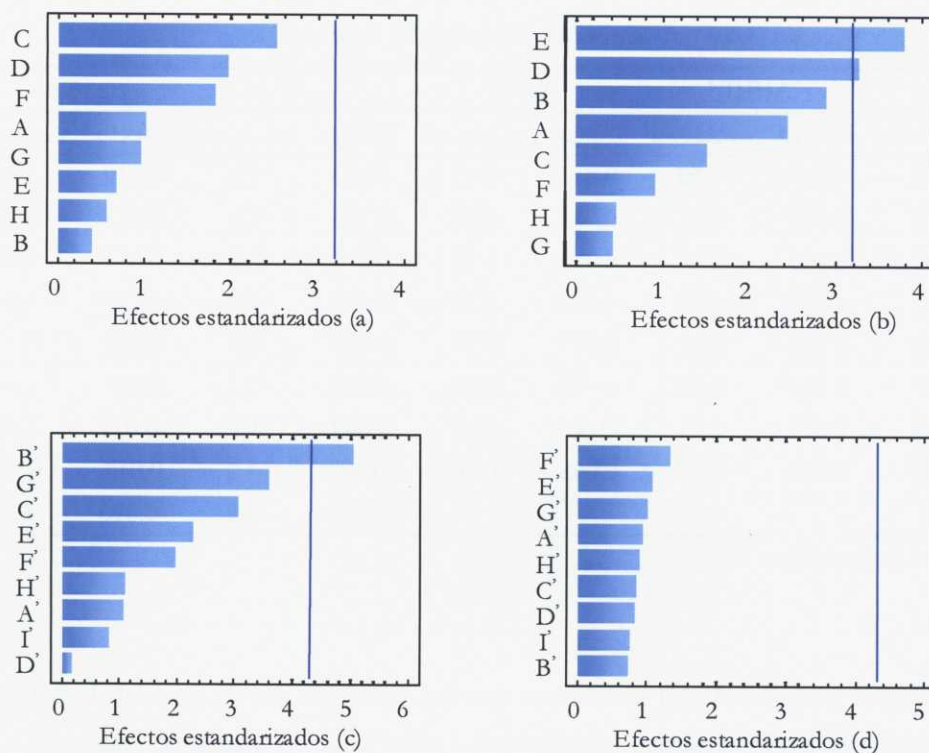


Figura 4. Cartas Pareto para la determinación de As (a partir de As(III) (a) y As(V) (b)), Bi (c) y Ge (d)

En el análisis de estas cartas, obtenemos también información sobre los efectos de cada variable, así como el valor de la $t_{\text{experimental}}$ para cada una de ellas (**Tabla 11**).

Tabla 11. Efecto de las variables

Variable	As(III)*		As(V)*		Bi		Ge	
	Efecto	t _{experimental}	Efecto	t _{experimental}	Efecto	t _{experimental}	Efecto	t _{experimental}
A	-0.014	-1.02	0.017	2.43	0.027	1.1	0.019	1.0
B	0.005	0.39	0.021	2.89	0.125	5.1	0.015	0.75
C	0.035	2.52	0.010	1.50	0.076	3.2	0.017	0.9
D	-0.027	-1.96	-0.023	-3.27	-0.004	-0.2	-0.017	-0.85
E	0.009	0.69	0.027	3.79	0.056	2.4	0.022	1.1
F	0.025	1.82	-0.006	-0.90	-0.048	-2.1	0.027	1.4
G	0.013	0.95	-0.003	-0.41	0.089	3.7	-0.021	-1.05
H	-0.008	-0.57	0.003	0.46	-0.027	-1.2	0.018	0.95
I	-	-	-	-	-0.020	-0.9	-0.015	-0.8

*Espectrofotómetro 4100

En el caso del As(V) se observa que las variables E y D (caudal de NaBH₄ y longitud del bucle) resultan significativas, sobrepasando ambas el valor de t_{crítico}. Además, el efecto del caudal de NaBH₄ resultó ser positivo, es decir, al aumentar el caudal la señal de absorbancia aumenta mientras que para la longitud del bucle ocurre lo contrario al tener efecto negativo (**Tabla 11**). Para el Bi, la variable B' (concentración de NaBH₄), resultó significativa (t_{experimental}=5.1 > t_{crítica}=4.3) afectando positivamente a la eficiencia de la generación del hidruro de Bi.

Como ya se ha indicado, la “confusión” significa que el efecto calculado (t_{experimental}) para cada una de las variables analíticas, no es debido sólo a dicha variable, sino que también puede incluir el efecto debido a combinaciones de variables. Lo que sí aseguran Plackett y Burman es que los efectos de dos variables analíticas no van a estar combinados [65].

En cuanto a las posibles interacciones entre variables, se estudian las de segundo orden (tomando las variables de tres en tres), eliminando para ello las que puedan

enmascarar los resultados finales y llevarnos a tomar decisiones equivocadas. Estas variables son, en principio, las que ofrecen una menor significación.

A continuación, se muestran algunas de las interacciones estudiadas en las que se observan las variables significativas resultantes del estudio (**Figura 5**).

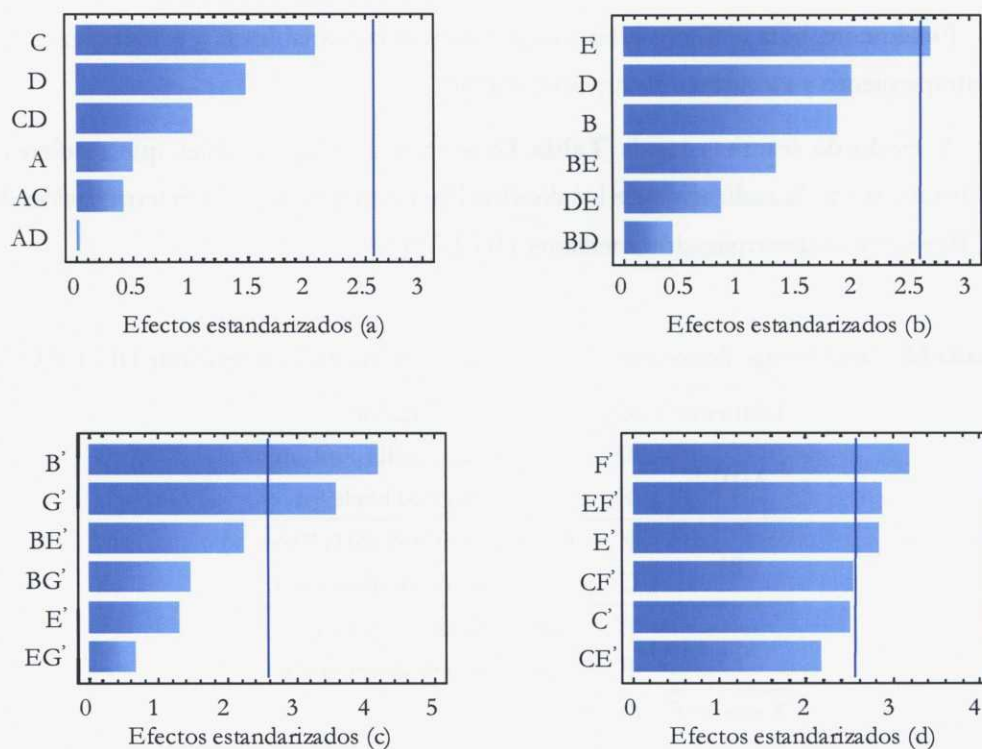


Figura 5. Cartas Pareto de segundo orden para la determinación de As (a partir de As(III) (a) y As(V) (b)), Bi (c) y Ge (d).

De los resultados se concluye que para la generación de la arsina a partir de As(III) ninguna variable resultó significativa, mientras que para la generación a partir de As(V) este estudio de interacciones confirma la variable E (longitud del bucle) como significativa (ya mostrada en las cartas Pareto de primer orden).

Para el Bi, estos estudios muestran la variable G' (tiempo de atrapamiento) como significativa además de la variable B' (concentración de NaBH₄) que ya mostraban las cartas Pareto de primer orden.

Finalmente, para el Ge resultaron significativas las variables E' y F' (temperaturas de atrapamiento y atomización respectivamente).

A modo de resumen, en la **Tabla 12** se muestran las variables que resultaron significativas tras la realización de los diseños Plackett-Burman en la determinación de As, Bi y Ge y su determinación mediante HG-ETAAS.

Tabla 12. Variables significativas en la determinación de As, Bi y Ge mediante HG-ETAAS

Elemento	Código	Variable
As(V)*	D	Caudal de NaBH ₄ /mL min ⁻¹
	E	Longitud bucle/m
Bi	B'	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)
	G'	Tiempo de atrapamiento/s
Ge	E'	Temperatura atrapamiento/°C
	F'	Temperatura atomización/°C

*Espectrofotómetro 4100

Para las restantes variables, como su variación no provoca cambios relevantes en el sistema, se le fija el valor que creamos apropiado para nuestro estudio. Para ello se tendrá en cuenta el consumo de reactivos y tiempo de análisis escogiendo los valores de las variables que minimicen estos dos parámetros.

Según esto, los valores de las variables no significativas serán los mostrados en la **Tabla 13**.

Tabla 13. Valores de las variables que no resultaron significativas

Elemento	Código	Variable	Valor
As(III)*	A	Concentración HCl/M	0.5
	B	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	0.5
	C	Caudal HCl/mL min ⁻¹	1.80
	D	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	0.78
	E	Longitud bucle/m	0.25
As(V)*	A	Concentración HCl/M	5
	B	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	2
	C	Caudal HCl/mL min ⁻¹	1.8
Bi	A'	Concentración HCl/M	3
	C'	Caudal HCl/mL min ⁻¹	9
	D'	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	5
	E'	Temperatura atrapamiento/s	1000
	F'	Temperatura atomización/s	1500
	H'	Longitud bucle/m	0.1
	I'	Caudal argon/mL min ⁻¹	50
Ge	A'	Concentración HCl/M	3
	B'	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	2
	C'	Caudal HCl/mL min ⁻¹	9
	D'	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	5
	G'	Tiempo atrapamiento/s	10
	H'	Longitud bucle/m	1
	I'	Caudal argon/mL min ⁻¹	50

*Espectrofotómetro 4100

A continuación, se optimizan las variables que resultaron significativas mediante un diseño composicional.

3.3.OPTIMIZACIÓN DE LAS VARIABLES SIGNIFICATIVAS

En el presente apartado se aborda la optimización de las variables que resultan significativas para el desarrollo de los métodos de determinación de As, Bi y Ge mediante HG-ETAAS. Para ello se utilizan los espectrofotómetros de absorción atómica citados en el apartado anterior y los sistemas de generación descritos en las **Figuras 2 y 3**. Las condiciones instrumentales empleadas se muestran en la **Tabla 5**.

Dichas variables se optimizan mediante un diseño composicional 2^2 +star el cual implica 10 experiencias con 4 grados de libertad, estableciendo un intervalo de estudio para cada variable de la misma forma que se hizo a la hora de realizar el diseño de Plackett-Burman (**Tabla 14**). El paquete estadístico utilizado ha sido Statgraphics Plus 4.0.

Se establece el mismo intervalo de estudio para cada variable que el utilizado en el diseño de Plackett-Burman. De esta manera, en la **Tabla 14** se muestran las variables a optimizar, así como los valores altos y bajos para cada variable.

Tabla 14. Valores de las variables a optimizar para la determinación de As, Bi y Ge

Elemento	Código	Variable	Bajo(-)	Alto(+)
As(V)*	D	Caudal de NaBH ₄ /mL min ⁻¹	0.78	1.8
	E	Longitud bucle/m	0.5	2
Bi	B'	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	0.2	2
	G'	Tiempo de atrapamiento/s	10	30
Ge	E'	Temperatura atrapamiento/°C	20	1000
	F'	Temperatura atomización/°C	1500	2500

*Espectrofotómetro 4100

Con estos valores obtenemos las matrices del diseño composicional 2^2+star para cada elemento, mostradas en las **Tablas 15, 16 y 17**.

Tabla 15. Matriz del diseño composicional para la generación del hidruro de As^a

Experiencia	Longitud bucle/m	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹
1	K ₀ ^b	K ₀ ^c
2	-	-
3	+	-
4	-	+
5	+	+
6	-α ^d	K ₀ ^c
7	+α ^e	K ₀ ^c
8	K ₀ ^b	-α ^f
9	K ₀ ^b	+α ^g
10	K ₀ ^b	K ₀ ^c

^aEspectrofotómetro 4100

^bK₀= 1.25

^cK₀= 1.29

^d-α=0.441433

^e+α=2.05857

^f-α=0.74

^g+α=1.83

Tabla 16. Matriz del diseño composicional para la determinación de Bi

Experiencia	Concentración NaBH_4 /%(m/v)	Tiempo atrapamiento/s
1	K_0^a	K_0^b
2	-	-
3	+	-
4	-	+
5	+	+
6	$-\alpha^c$	K_0^b
7	$+\alpha^d$	K_0^b
8	K_0^a	$-\alpha^e$
9	K_0^a	$+\alpha^f$
10	K_0^a	K_0^b

^a $K_0 = 1.1$

^b $K_0 = 20$

^c $-\alpha = 0$

^d $+\alpha = 2.37279$

^e $-\alpha = 5.85786$

^f $+\alpha = 34.1421$

Tabla 17. Matriz del diseño composicional para la determinación de Ge

Experiencia	Temperatura de atrapamiento/°C	Temperatura de atomización/°C
1	K ₀ ^a	K ₀ ^b
2	-	-
3	+	-
4	-	+
5	+	+
6	-α ^c	K ₀ ^b
7	+α ^d	K ₀ ^b
8	K ₀ ^a	-α ^e
9	K ₀ ^a	+α ^f
10	K ₀ ^a	K ₀ ^b

^aK₀=510

^bK₀=2000

^c-α=20

^d+α=1202.0

^e-α=1292.89

^f+α=2707.11

En la **Tabla 18** se muestran las señales analíticas obtenidas correspondientes a los experimentos realizados.

Tabla 18. Resultados del diseño composicional para la determinación de As, Bi y Ge

Experiencia	Absorbancia		
	As(V)*	Bi	Ge
1	0.081	0.203	0
2	0.066	0.089	0.0002
3	0.083	0.105	0.0013
4	0.060	0.096	0.0300
5	0.071	0.096	0.0890
6	0.058	0	0
7	0.070	0.196	0.0062
8	0.068	0.049	0
9	0.077	0.133	0.0710
10	0.081	0.179	0.0019

*Espectrofotómetro 4100

Una vez obtenidos estos datos, se introducen en el diseño composicional que nos ayudará a obtener el óptimo para cada variable. Este estudio se realizará con ayuda de las superficies de respuesta estimada para las dos variables. En dichas superficies se busca el máximo dentro del intervalo establecido para las variables. En el caso de que existan varios máximos se escogerá el máximo absoluto, pero si éste no es aconsejable se escogerá el máximo local más robusto, es decir, el de mayor amplitud. Para obtener el valor del óptimo nos ayudaremos del contorno de las superficies de respuesta.

En las **Figuras 6, 7 y 8**, se muestran las superficies de respuesta y sus contornos para el estudio del composicional para la determinación de As, Bi y Ge.

Arsénico(V)

Como se observa en la **Figura 6**, la absorbancia aumenta al aumentar la longitud del bucle, lo que era esperado, ya que dicha variable (E) afecta positivamente al sistema como hemos visto en el apartado anterior. Esto es así hasta que se alcanza un valor óptimo de la variable (1.6 m), disminuyendo a continuación el valor de la absorbancia. Para la variable caudal de NaBH_4 (D) ocurre lo contrario, ya que el óptimo se encuentra a valores bajos de esta variable (0.96 mL min^{-1}) y la señal de absorbancia disminuye ligeramente al aumentar el valor de la misma debido a su efecto negativo sobre el sistema. Las mismas conclusiones se pueden obtener observando el contorno de la superficie de respuesta, donde se muestra el valor óptimo para ambas variables.

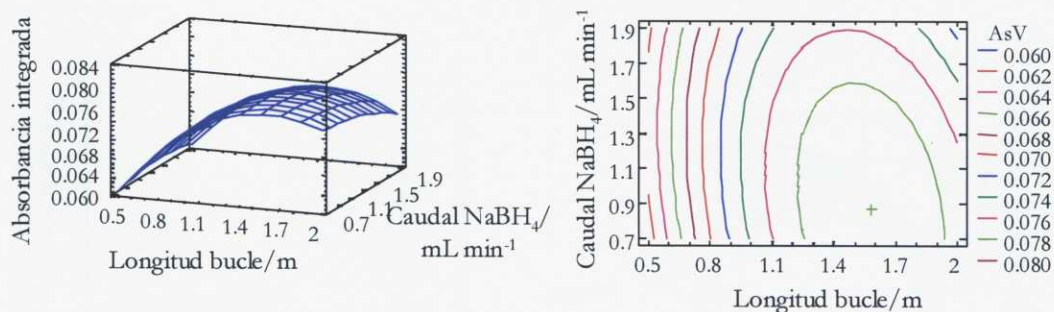


Figura 6. Superficie de respuesta y contorno obtenidos para la determinación de As a partir de As(V)

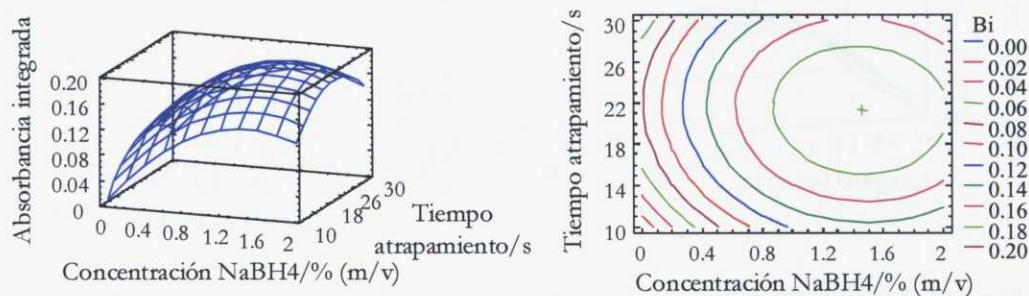
De esta manera, se obtienen los valores óptimos que se muestran en la **Tabla 19**.

Tabla 19. Valores óptimos para las variables significativas en la generación del hidruro de As a partir de As(V)

Código	Variable	Valor óptimo
D	Caudal $\text{NaBH}_4/\text{mL min}^{-1}$	0.96
E	Longitud bucle/m	1.6

Bismuto

Como se observa en la **Figura 7** el valor de la absorbancia debida al Bi aumenta al aumentar ambas variables hasta alcanzar un valor óptimo a partir del cual la absorbancia comienza a disminuir. Esto es así debido a que tanto la variable concentración de NaBH_4 (B') como la variable tiempo de atrapamiento (G') afectan positivamente al sistema.

**Figura 7.** Superficie de respuesta y contorno obtenidos para la determinación de Bi

En la gráfica del contorno de la superficie de respuesta se observa claramente el valor óptimo para ambas variables, los cuales se muestran en la **Tabla 20**.

Tabla 20. Valores óptimos para las variables significativas en la determinación de Bi

Código	Variable	Valor óptimo
B'	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	1.4
G'	Tiempo atrapamiento/s	22

Germanio

En este caso, como puede observarse en la **Figura 8**, para la variable temperatura de atomización (F') no se alcanza un valor óptimo en el intervalo de temperatura ensayado, ya que la absorbancia se incrementa al aumentar la temperatura de atomización indefinidamente. En este caso se tomará el valor óptimo (2500°C) teniendo en cuenta los impedimentos instrumentales. Por otra parte, para la variable temperatura de atrapamiento (E') se observa una ligera variación en el valor de la absorbancia al variar la temperatura de atrapamiento, no alcanzándose ningún valor óptimo y tomando este como el valor máximo de la temperatura (1000°C) debido a que afecta positivamente al sistema. Esto se ve reflejado en la gráfica del contorno de la superficie de respuesta donde se observa la ausencia del óptimo.

La realización de otro diseño compositacional en la dirección del óptimo utilizando un intervalo de temperatura de atrapamiento y atomización mayor al empleado anteriormente, tiene serias limitaciones instrumentales: la mayor temperatura de atrapamiento que se puede utilizar es 1000°C (a mayor temperatura se produce el deterioro del tubo de cuarzo que se introduce en el tubo de grafito). De forma similar la mayor temperatura de atomización permitida para evitar el deterioro del tubo de grafito y los anillos del horno es 2500°C.

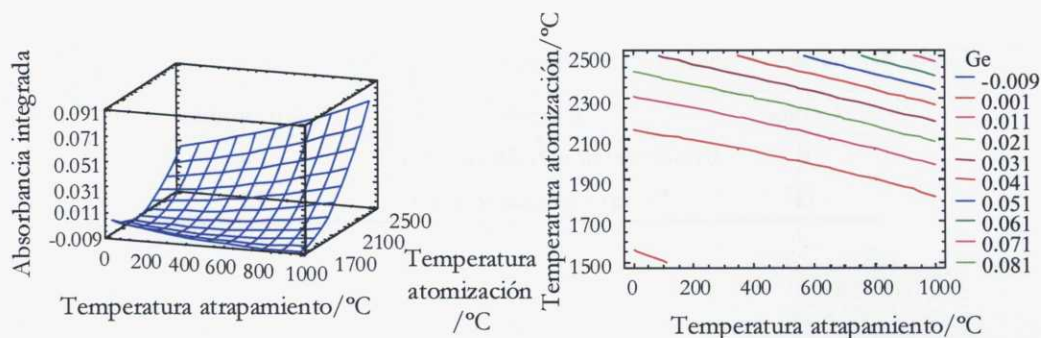


Figura 8. Superficie de respuesta y contorno obtenidos para la determinación de Ge

De esta manera, los valores seleccionados para estas variables se muestran en la **Tabla 21**.

Tabla 21. Valores óptimos para las variables significativas en la determinación de Ge

Código	Variable	Valor óptimo
E'	Temperatura atrapamiento/°C	1000
F'	Temperatura atomización/°C	2500

Finalmente, las condiciones óptimas seleccionadas para la generación del hidruro de As a partir del As(III) y As(V), así como las condiciones de generación, atrapamiento y atomización de los hidruros de Bi y Ge se muestran en las **Tablas 22** y **23**.

Tabla 22. Valores óptimos para la generación del hidruro de As*

Código	Variable	As(III)	As(V)
A	Concentración HCl/M	0.5	5
B	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	0.5	2
C	Caudal HCl/mL min ⁻¹	1.8	1.8
D	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	0.78	0.96
E	Longitud bucle/m	0.25	1.6

*Espectrofotómetro 4100

Las condiciones de atrapamiento y atomización para el caso del As se optimizan en el siguiente apartado, donde se realizará un estudio de las temperaturas de atrapamiento y atomización y tiempos de atrapamiento para distintos recubrimientos permanentes.

Tabla 23. Valores óptimos para la determinación de Bi y Ge

Código	Variable	Bi	Ge
A'	Concentración HCl/M	3	3
B'	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	1.4	2
C'	Caudal HCl/mL min ⁻¹	9	9
D'	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	5	5
E'	Temperatura atrapamiento/°C	1000	1000
F'	Temperatura atomización/°C	1500	2500
G'	Tiempo atrapamiento/s	22	10
H'	Longitud bucle/m	0.1	1
I'	Caudal argon/mL min ⁻¹	50	50

Cabe recordar, que para la generación a partir del As(III) ninguna variable resultó significativa, y por ello se escogieron los valores inferiores para todas las variables excepto para la variable caudal de HCl, ya que de todas ellas era la que más importancia tenía y afectaba positivamente, por ello se escogió su valor máximo.

Por otro lado, en las condiciones de generación desde el estado de oxidación (V), éste es reducido a As(III) y posteriormente se genera la arsina desde el estado trivalente, por lo tanto se deduce que en las condiciones de generación de arsina desde el estado pentavalente también se genera la arsina desde el estado trivalente, por ello esas serán las condiciones de generación de arsénico inorgánico total.

3.4. CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DE LOS MÉTODOS

Tradicionalmente, en la espectroscopía de absorción atómica existen dos modos de cuantificación, que son el *método de calibración directa* y el *método de adiciones*.

En el *método de calibración directa*, se construye la recta de calibrado representando la absorbancia frente a la concentración de analito presente en patrones acuosos. Para determinar la concentración de una muestra desconocida, se interpola la correspondiente señal de absorbancia de dicha muestra sobre la recta de calibrado y así obtendremos la concentración. Este método presenta la ventaja de que se pueden determinar un gran número de muestras utilizando la misma calibración, siempre y cuando no exista variación en las condiciones instrumentales ni el protocolo analítico seguido. Por el contrario, la calibración directa puede conducirnos a errores cuando existan problemas por interferencias debidas a la matriz, ya que este método considera que la señal es debida únicamente al analito.

En este caso se utilizará el *método de adiciones*, el cual consiste en la adición de concentraciones crecientes de patrón a la muestra y construir así la correspondiente recta de adiciones. La comparación de la pendiente de dicha recta con la pendiente de la recta de calibrado nos indicará si existe o no efecto debido a la matriz. En caso de

que ambas pendientes no difieran significativamente (95% de confianza) el efecto debido a la matriz se considerará nulo, en caso contrario será necesaria la utilización del método de adiciones para la cuantificación de las muestras.

Las rectas de calibrado y adición se establecen mediante el *método de mínimos cuadrados*, el cual minimiza la suma de los cuadrados de los residuos. La línea así calculada se conoce como *recta de regresión de y sobre x*:

$$y = a + bx$$

Dicha recta será utilizada para calcular las concentraciones de las muestras, así como los límites de detección y cuantificación [66].

En el presente apartado, se pretende evaluar el posible efecto de la matriz en los métodos de determinación de los hidruros de As, Bi y Ge desarrollados, así como la sensibilidad, precisión y exactitud de dichos métodos. Para el caso del As, estos estudios se realizan tanto en el espectrofotómetro 4100 como en el Aanalyst 800, comparando así la sensibilidad de cada uno.

3.4.1. Rectas de calibrado y adición

A continuación se muestran las rectas de calibrado y adición obtenidas para la determinación de As(III) y As inorgánico total, Bi y Ge mediante HG-ETAAS.

En la determinación del **Arsénico**, las rectas de calibrado fueron preparadas con concentraciones de 0, 2.5 y 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As, mientras que en las rectas de adición se adicionaron volúmenes adecuados de disolución patrón de As (para obtener concentraciones de 0, 2.5 y 5 $\mu\text{g L}^{-1}$) a 20 mL de agua de mar y 5 mL de agua termal, respectivamente, para determinar el posible efecto matriz. El volumen final en todos los casos fueron 25 mL. Los resultados se muestran en las **Tablas 24-25** y **Figuras 9-10**.

Tabla 24. Rectas de calibrado y adición para la determinación de As(III) y As inorgánico total obtenidas con el espectrofotómetro 4100

	As(III)	As inorgánico total
Calibrado acuoso	$Ab=0.007+0.029[As]$	$Ab=0.008+0.029[As]$
Adición mar	$Ab=-0.001+0.031[As]$	$Ab=0.063+0.023[As]$
Adición termal	$Ab=0.042+0.021[As]$	$Ab=0.071+0.024[As]$

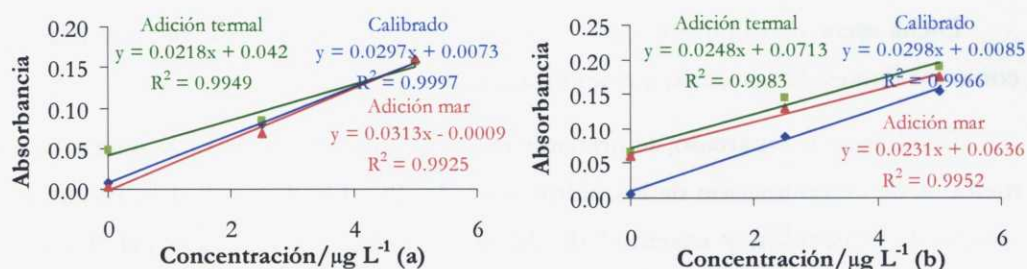


Figura 9. Rectas de calibrado y adición para la determinación de As(III) y As inorgánico total obtenidas con el espectrofotómetro 4100

Tabla 25. Rectas de calibrado y adición para la determinación de As(III) y As inorgánico total obtenidas con el espectrofotómetro Analyst 800

	As(III)	As inorgánico total
Calibrado acuoso	$Ab=0.001+0.061[As]$	$Ab=-0.010+0.069[As]$
Adición mar	$Ab=0.029+0.064[As]$	$Ab=0.136+0.063[As]$
Adición termal	$Ab=0.033+0.059[As]$	$Ab=0.147+0.058[As]$

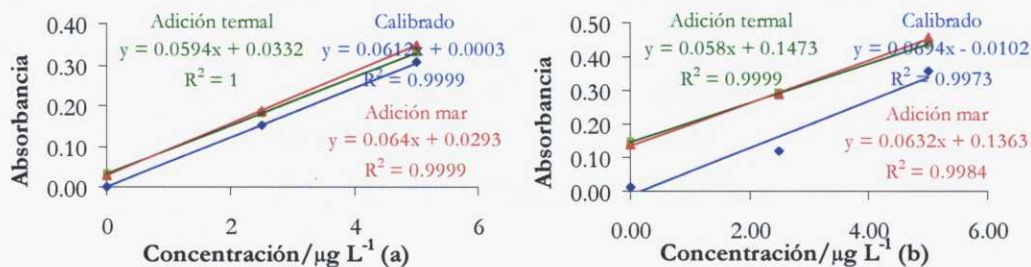


Figura 10. Rectas de calibrado y adición para la determinación de As(III) (a) y As inorgánico total (b) obtenidas con el espectrofotómetro Aanalyst 800

A continuación se realiza una comparación entre las pendientes del calibrado y las adiciones para comprobar si existe o no efecto matriz [66]. Dichos estudios se realizan aplicando un test que compara la similitud de la varianza y las pendientes de dos líneas de regresión. Se compara la varianza aplicando un test F para el 95% de confianza, donde se toma la razón de las varianzas asociadas a las pendientes. Se calcula el valor de $F = S_1^2/S_2^2$. Si resultan ser significativamente diferentes, las pendientes se compararán mediante un test de Cochran, mientras que si son iguales se utilizará un test t.

Para la determinación de As (III) y As inorgánico total con ambos espectrofotómetros se comprueba que no existe diferencias significativas entre las varianzas, y que las pendientes resultaron ser similares.

En la determinación del **Bismuto**, las rectas de calibrado fueron preparadas con concentraciones de 0, 2.5, 5 y $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Bi, mientras que en las rectas de adición se adicionaron volúmenes adecuados de disolución patrón de Bi (para obtener concentraciones de 0, 2.5, 5 y $10 \mu\text{g L}^{-1}$) a 5 mL de agua de mar y 2 mL de agua termal respectivamente para determinar el posible efecto matriz. El volumen final resultó ser de 25 mL. Los resultados se muestran en la **Tabla 26** y **Figura 11**.

Tabla 26. Rectas de calibrado y adición para la determinación de Bi

	Bi
Calibrado acuoso	$Ab=0.011+0.025[Bi]$
Adición mar	$Ab=0.003+0.020[Bi]$
Adición termal	$Ab=-0.007+0.033[Bi]$

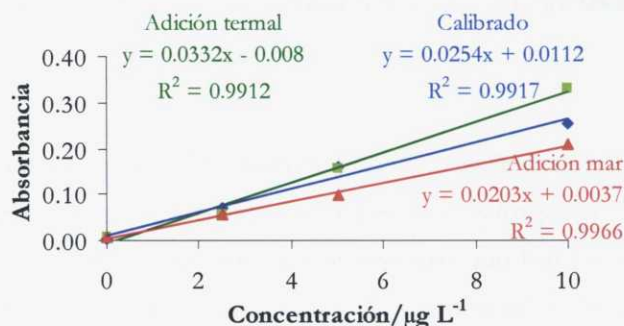


Figura 11. Rectas de calibrado y adición para la determinación de Bi

Se comprobó que las varianzas y las pendientes de las rectas de calibrado y adición son significativamente iguales al 95% de confianza.

En la determinación del **Germanio**, las rectas de calibrado fueron preparadas con concentraciones de 0, 5, 10 y 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Ge, mientras que en las rectas de adición se adicionaron volúmenes adecuados de disolución patrón de Ge (para obtener concentraciones de 0, 5, 10 y 20 $\mu\text{g L}^{-1}$) a 5 mL de agua de mar y 2 mL de agua termal respectivamente para determinar el posible efecto matriz. De nuevo el volumen final fue de 25 mL. Los resultados se muestran en la **Tabla 27** y **Figura 12**.

Tabla 27. Rectas de calibrado y adición para la determinación de Ge

Ge	
Calibrado acuoso	$Ab=0.008+0.009[Ge]$
Adición mar	$Ab=0.003+0.006[Ge]$
Adición termal	$Ab=0.015+0.010[Ge]$

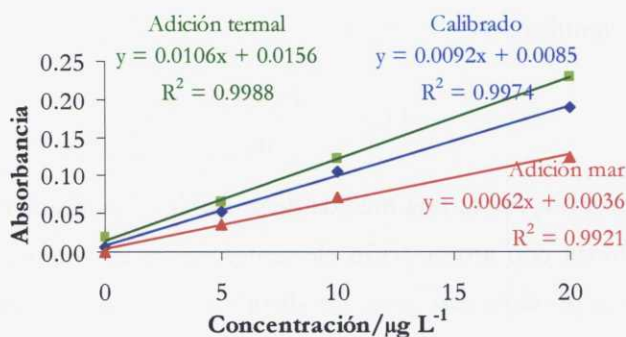


Figura 12. Rectas de calibrado y adición para la determinación de Ge

Tras la aplicación del test de igualdad de las pendientes se comprobó que para un 95% de confianza son similares. Además, no se encontraron diferencias significativas entre las varianzas.

3.4.2. Límites de detección, cuantificación y masas características

La sensibilidad de los métodos desarrollados, se estudió a partir de tres parámetros: límites de detección, cuantificación y masas característica.

El *límite de detección* (LOD, *Limit of Detection*), se expresa como:

$$\text{LOD} = \frac{3 \times S_d}{m}$$

donde S_d es la desviación estándar correspondiente a once medidas del blanco de reactivo y m es la pendiente de la recta de calibrado. Se utiliza un factor 3 para asegurar un nivel de confianza del 99.9%. Dicho límite indica la concentración que proporciona una señal distinta del blanco, es decir, la menor concentración de analito a partir de la cual se puede realizar una detección cualitativa, pero no cuantitativa [66].

El *límite de cuantificación* (LOQ, *Limit of Quantitation*), se define como el menor valor de concentración de analito a partir del cual se pueden realizar cuantificaciones estadísticamente significativas, y se expresa como:

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times S_d}{m}$$

La *masa característica*, m_0 , es una medida de sensibilidad utilizada en espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica y se define como la masa de analito (en pg) que produce una señal de absorbancia integrada con un área igual a 0.0044 A.s. Se expresa como:

$$m_0 = \frac{0.0044 \times C \times V}{A_{ic} - A_{ib}}$$

donde C es la concentración del analito (en $\mu\text{g L}^{-1}$), V es el volumen de la muestra inyectada (en μL), A_{ic} es la absorbancia correspondiente a cada nivel de concentración y A_{ib} es la absorbancia correspondiente a cada nivel de blanco de reactivo.

Los resultados obtenidos de estos tres parámetros se muestran a continuación:

Tabla 28. Límites de detección, cuantificación y masas características obtenidas para los métodos desarrollados

	LOD/ $\mu\text{g L}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g L}^{-1}$	m_0/pg
As(III)*	0.53	1.78	135
As inorgánico total*	0.34	1.15	126
As(III)	0.12	0.42	65
As inorgánico total	0.19	0.66	73
Bi	0.54	1.80	80
Ge	2.39	7.14	233

*Espectrofotómetro 4100

Como se observa en la **Tabla 28**, en el caso de la determinación de As, se obtiene mayor sensibilidad con el espectrofotómetro Analyst 800 que con el 4100. Este hecho es debido a que el equipo Analyst 800 se encuentra equipado con lámparas de descarga sin electrodos que proporcionan una mayor sensibilidad que las lámparas de cátodo hueco utilizadas en el espectrofotómetro 4100.

En las rectas de adición obtenidas para el Bi se observa que no se obtiene suficiente sensibilidad para su determinación en el agua de mar y termal utilizadas, mientras que para el Ge ocurre lo mismo en agua de mar (**Tablas 26 y 27**).

3.4.3. Precisión

Para estudiar la precisión de los métodos desarrollados, se toman muestras de agua de mar y agua termal a las que se añaden concentraciones distintas de cada metal. Se estudia la repetibilidad con la concentración para cada metal y el resultado se expresa como *desviación estándar relativa* (RSD, *Relative Standard Deviation*) correspondiente a once medidas de cada nivel, que se define como:

$$\text{RSD} = 100 \times \frac{S_d}{\bar{X}}$$

donde S_d es la desviación estándar correspondiente a once medidas de cada punto y \bar{X} es la media de dichas medidas.

Los resultados se muestran en las **Figuras 13-16**.

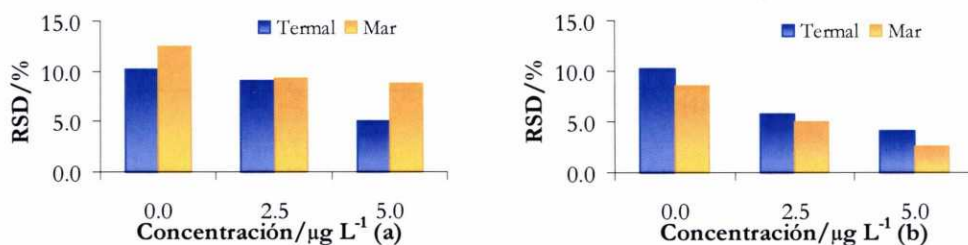


Figura 13. Desviación estándar relativa para el As(III) (a) y As inorgánico total (b). Espectrofotómetro 4100

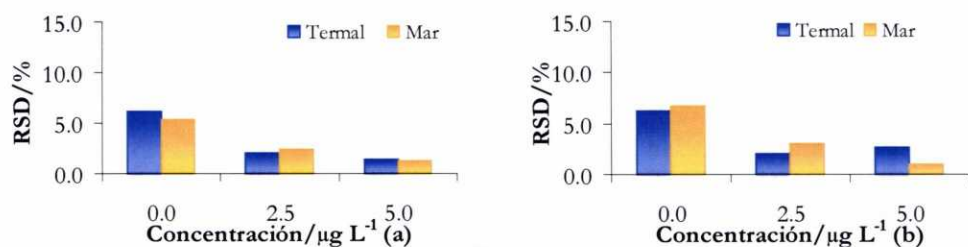


Figura 14. Desviación estándar relativa para el As(III) (a) y As inorgánico (b). Espectrofotómetro Analyst 800

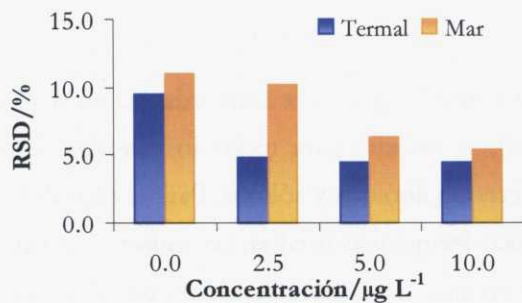


Figura 15. Desviación estándar relativa para el Bi

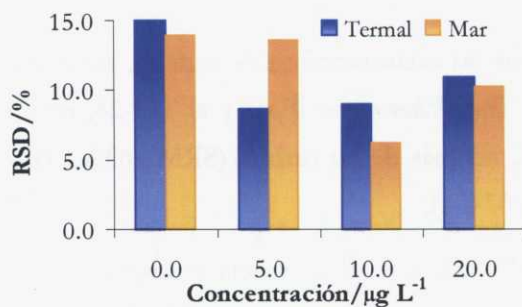


Figura 16. Desviación estándar relativa para el Ge

Como puede verse, la precisión obtenida para todos los metales es similar y aceptable para todas las concentraciones de analito estudiadas, si bien se observa un empeoramiento de la precisión a bajas concentraciones.

3.4.4.Exactitud

La exactitud, definida como “el grado de concordancia entre el valor verdadero y el valor experimental” [66], se estudió para todos los metales, utilizando para ello, distintos materiales de referencia líquidos y sólidos. Para el caso del As se determinará la concentración de arsénico inorgánico total en las muestras certificadas, y no la de As(III), ya que en esos materiales se encuentra certificado el contenido de As total. Para este elemento se utilizó un material de referencia de agua dulce (SLRS-4, *Reverie Water Reference Material for Trace Metals*) y otro de agua salada (CASS-3, *Nearshore Seawater reference Material for Trace Metals*), así como un material de carbón (SRM 1632b, *Trace Elements in Coal (Bituminous)*), y un material de ceniza (SRM 1633b, *Trace Elements in Coal Fly Ash*).

Los materiales acuosos no están certificados para Bi, así que para este metal se utilizaron el SRM 1643d, *Trace Elements in Water* y el TM-24, en los cuales se da un valor indicativo para el Bi, además de un carbón (SRM 1632c, *Trace Elements in Coal Fly Ash*) y un suelo (GBW 07401).

No se encontró ningún material de referencia acuoso en los que se certifique o indiquen valores de Ge, así que se utilizó para validar el método un material de referencia de cenizas (SRM 1633a, *Trace Elements in Coal Fly Ash*). Para los materiales sólidos, se pesaron 0.5 g de los mismos y se los sometió a un proceso de extracción ácida con agua regia en microondas. Cada material de referencia se digirió por triplicado y fue medido once veces.

En las **Tablas 29-32** se muestran dichos resultados, así como las recuperaciones obtenidas (valor obtenido/valor certificado).

Tabla 29. Exactitud del método de determinación de As desarrollado con el espectrofotómetro 4100 (n=11)

Concentración As±SD (µg L ⁻¹)			
	Valor certificado	Valor obtenido	R (%)
SLRS-4	0.68±0.06	0.62±0.09*	91±13.2
CASS-3	1.09±0.07	1.15±0.10*	105±9.1

*Valores indicativos, debido a que el LOQ es superior al valor certificado

Tabla 30. Exactitud del método de determinación de As desarrollado con el espectrofotómetro Aanalyst 800 (n=11)

Concentración As±SD			
	Valor certificado	Valor obtenido	R (%)
SLRS-4 ^a	0.68±0.06	0.68±0.03	100±4.4
CASS-3 ^a	1.09±0.07	1.17±0.02	107±1.8
1632b ^b	3.72±0.09	4.12±0.03	110±0.8
1633b ^b	136.2±2.6	135.3±0.1	99±0.07

^aConcentración en µg L⁻¹

^bConcentración en µg g⁻¹

Tabla 31. Exactitud del método de determinación de Bi (n=11)

	Concentración Bi \pm SD		
	Valor certificado	Valor obtenido	R (%)
1643 d ^a	13*	11.70 \pm 0.32	90 \pm 2.4
TM-24 ^a	2.5*	2.33 \pm 0.15	93 \pm 6.0
GBW 07401 ^b	1.2 \pm 0.2	1.6 \pm 0.1	133 \pm 8.3
1632c ^b	0.1*	0.08 \pm 0.01	80 \pm 10.0

*Valor informativo

^aConcentración en $\mu\text{g L}^{-1}$

^bConcentración en $\mu\text{g g}^{-1}$

Tabla 32. Exactitud del método de determinación de Ge (n=11)

	Concentración Ge \pm SD ($\mu\text{g g}^{-1}$)		
	Valor certificado	Valor obtenido	R (%)
1633a	6.0*	5.0 \pm 0.1	83 \pm 1.6

*Valor informativo

Como se puede observar las recuperaciones obtenidas son aceptables en todos los casos, observándose un valor ligeramente alto para el Bi obtenido en el material de referencia de suelo. Los resultados obtenidos con el espectrofotómetro 4100 son indicativos, debido a que el límite de cuantificación del método es superior al valor certificado en ambos materiales de referencia.

4.RECUBRIMIENTOS DE TUBOS DE GRAFITO EN ETAAS

En la introducción de este capítulo se comentan las ventajas de la utilización de recubrimientos permanentes frente a otros recubrimientos como el Pd, por ello, en este apartado se comparan y estudian distintos recubrimientos permanentes para la determinación de As, Bi y Ge mediante HG-ETAAS.

En la **Tabla 33** se muestran los distintos recubrimientos permanentes propuestos en la bibliografía (metales nobles como Ir, elementos formadores de carburos como Ta y Zr y otras especies como La, Nb, etc.) para el atrapamiento de los metales estudiados, así como, otras especies con puntos de fusión y ebullición superiores o similares a dichas sustancias refractarias. Las condiciones de generación utilizadas son las optimizadas en el apartado anterior.

El procedimiento de recubrimiento de los tubos de grafito (**Figura 17**) consistió en la inyección de cinco alícuotas de 100 μL de las diferentes disoluciones y/o suspensiones atrapantes de 2.5 g L^{-1} excepto para U y Ta, para las cuales la concentración fue de 1 g L^{-1} . Se insertaron entre cada inyección las etapas de secado mostradas en la **Tabla 34**. Finalmente, se activó la superficie de los tubos de grafito calentando a 2000°C.

Los tubos tratados de esta forma proporcionan entre 300-400 ciclos de atrapamiento/atomización dependiendo del recubrimiento.

Tabla 33. Puntos de ebullición y fusión de distintas especies

Especie	Punto de fusión/°C	Punto de ebullición/°C	Referencias
Pd	1554	2970	[43]
Ir	2410	4130	[17,31]
Pt	1772	3827±100	[16]
Rh	1966±10	3727±100	[17]
Ru	2310	3900	[17]
Nb	3468±10	5127	[45]
Ta	2996	5425±100	[45]
Zr	1852±2	4377	[44]
W	3410±20	5660	[45]
Ag	961.93	2212	-
U	1132.3±0.8	3818	-
La ₂ O ₃	2307	4200	-
BeO	2530±30	3900	-
Cr ₂ O ₃	2266±25	4000	-
TaC	3880	5500	-
Cr ₃ C ₂	1980	3800	-
VC	2810	3900	-

Tabla 34. Programa para el acondicionamiento de los tubos de grafito en ambos equipos

Etapa	Temperatura/°C	Rampa/s	Permanencia/s	Flujo Ar/ mL min ⁻¹ *
Secado	150	30	40	300
Secado	200	20	30	300
Atomización	2000	0	5	0

*Para el espectrofotómetro 4100

Para el Aanalyst 800: 250 mL min⁻¹

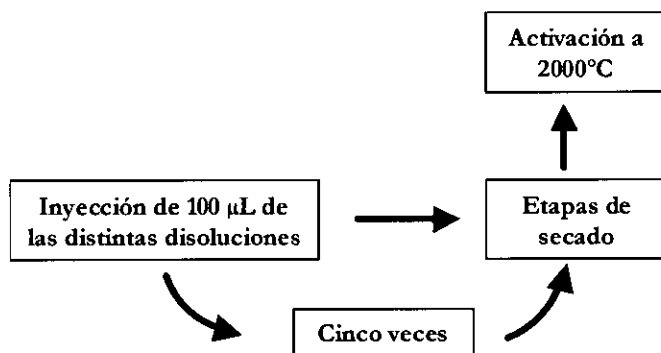


Figura 18. Procedimiento propuesto para el recubrimiento de los tubos de grafito

4.1. TEMPERATURAS DE ATRAPAMIENTO Y ATOMIZACIÓN. TIEMPOS DE ATRAPAMIENTO

En este apartado se optimizan las variables que afectan a la eficiencia de atrapamiento y atomización de los hidruros de As, Bi y Ge para los distintos recubrimientos permanentes propuestos, que serán las temperaturas de atrapamiento y atomización y el tiempo de atrapamiento.

Para el hidruro de As, dicho estudio se realiza en los dos espectrofotómetros utilizados hasta ahora (el 4100 y el Aanalyst 800). En el espectrofotómetro 4100, el caudal de Ar utilizado para introducir los vapores generados en el interior del tubo de grafito resultó ser poco crítico en función del recubrimiento utilizado. Se eligió un caudal óptimo de 50 mL min⁻¹.

4.1.1. Hidruro de As

Este estudio se lleva a cabo utilizando las condiciones de generación de la arsina a partir del As(III) optimizadas previamente (Tabla 22).

En primer lugar se estudian las temperaturas de atrapamiento y atomización, manteniendo un tiempo de atrapamiento de 30 s que se corresponde con un volumen de muestra de 900 μL (velocidad de la bomba 12.5 r.p.m.) (Figura 2).

El programa de temperaturas del horno utilizado se muestra a continuación:

Tabla 35. Programa de temperaturas del horno

Paso	Temperatura/ $^{\circ}\text{C}$	Rampa/s	Permanencia/s	Flujo Ar/ mL min^{-1} *
Atrapamiento	Variable	1	30	300
Atomización	Variable	0	5	0
Limpieza	2500	1	3	300

*Para el espectrofotómetro 4100

Para el Aanalyst 800: 250 mL min^{-1}

Para los tubos de grafito recubiertos con Ir, Zr, U y La se utilizan patrones acuosos de 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As y para los demás recubrimientos, debido a la menor eficiencia de atrapamiento proporcionada por los mismos, la concentración de los patrones utilizados fue de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Espectrofotómetro 4100

Temperaturas de atrapamiento

Se estudian temperaturas de atrapamiento entre 20°C y 1000°C fijando la temperatura de atomización en 1700°C.

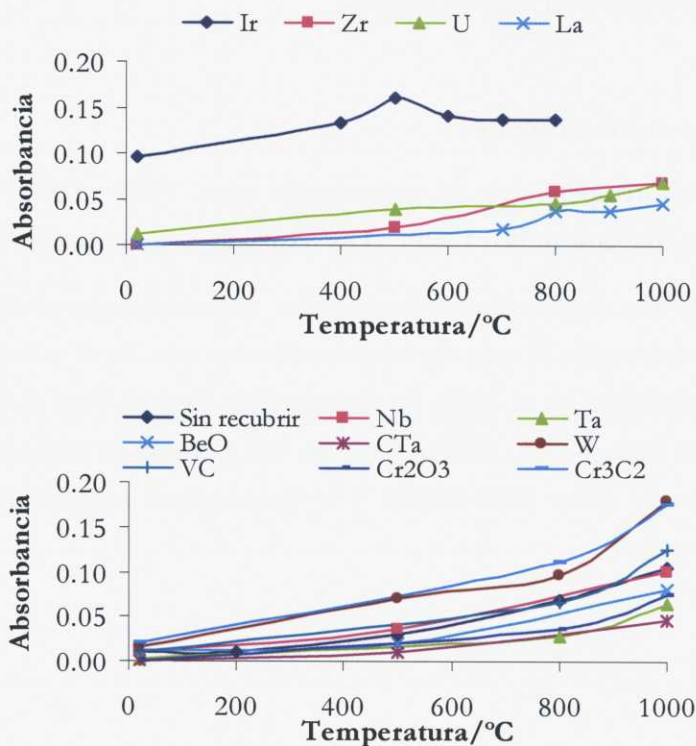


Figura 19. Efecto de la temperatura de atrapamiento correspondiente a los distintos recubrimientos estudiados para el As. Espectrofotómetro 4100 (calentamiento longitudinal)

Como se observa en la Figura 19, los tubos recubiertos con Ir proporcionan una mejor eficiencia de atrapamiento a bajas temperaturas. Para el resto de los recubrimientos propuestos excepto Ir son necesarias temperaturas altas (700-1000°C) para conseguir la máxima señal (óptima eficiencia de atrapamiento).

Este hecho es importante dado que el uso de altas temperaturas de atrapamiento acorta la vida útil del recubrimiento y del capilar de cuarzo utilizado para depositar el hidruro en la superficie del tubo de grafito.

Temperaturas de atomización

Se estudian temperaturas de atomización entre 1600 y 2200°C fijando la temperatura de atrapamiento en 1000°C. Los resultados se muestran en la **Figura 20**.

Para todos los recubrimientos se necesitan altas temperaturas de atomización (1700-2400), aunque para el caso de tubos recubiertos con Zr, U y La vemos que la señal es casi constante en el rango de temperaturas elegido. Para el caso de tubos recubiertos con CTa, W, VC, Cr₂O₃, CrC, Ta, Nb y el uso de tubos sin recubrir se alcanzan máximos sobre 1800-2000°C y a temperaturas mayores la sensibilidad disminuye claramente.

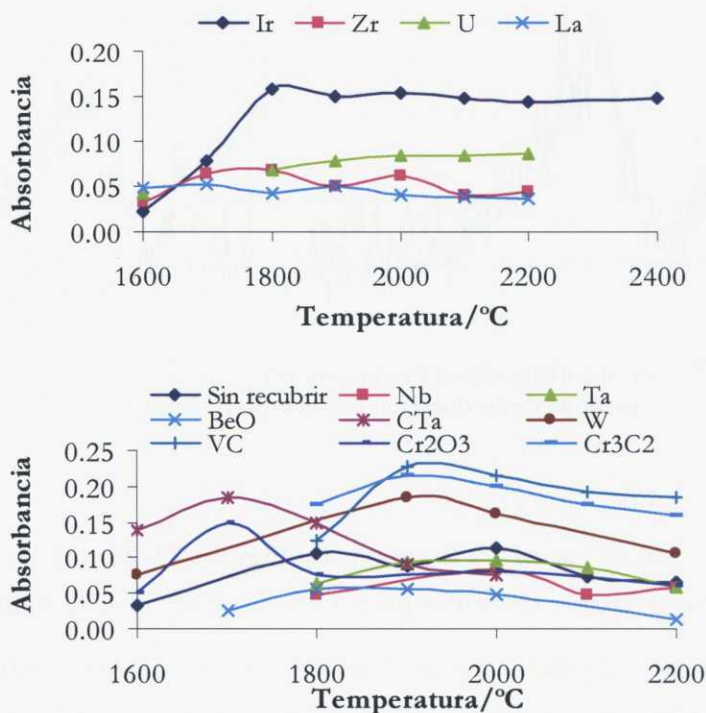


Figura 20. Efecto de la temperatura de atomización correspondiente a los distintos recubrimientos estudiados para el As. Espectrofotómetro 4100 (calentamiento longitudinal)

Para los recubrimientos con VC y Cr_2O_3 se observó la aparición de doble pico a temperaturas de atomización superiores a 2000°C (**Figura 21**) y para tubos recubiertos con Zr, U y Nb se observó un aumento del ruido al aumentar la temperatura de atomización.

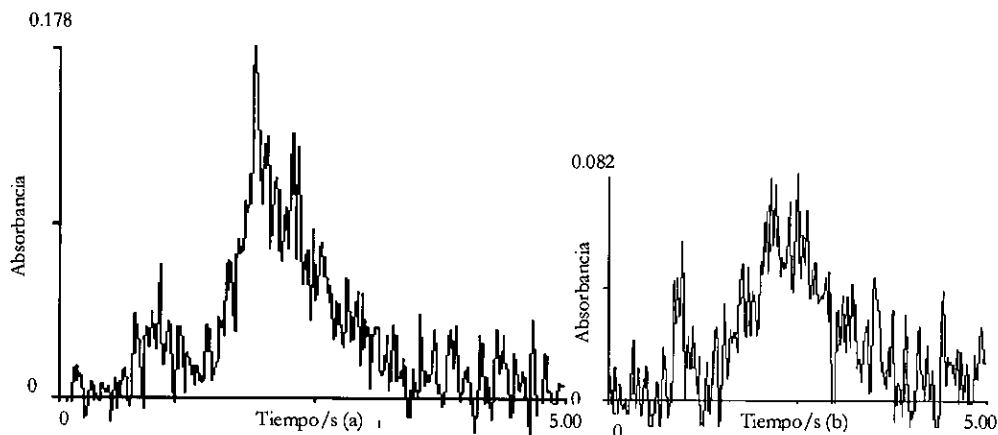


Figura 21. Perfiles de absorbancia para los recubrimientos de VC (a) y Cr₂O₃ (b) a 2000°C de temperatura de atomización con el espectrofotómetro 4100

Teniendo esto en cuenta y a la vista de las **Figuras 19, 20 y 21**, las temperaturas elegidas para los diferentes elementos propuestos se muestran en la **Tabla 36**.

Los resultados obtenidos son similares a los encontrados en la bibliografía. Así, Garbós y col. obtienen temperaturas de atrapamiento entre 800-900°C y temperaturas de atomización entre 2100-2650°C para atrapar el As con tubos de grafito recubiertos con Zr [44], mientras que Tsalev y col. atrapan la arsina con tubos recubiertos con Ir/Zr e Ir/W a 500°C [67].

Tabla 36. Temperaturas de atrapamiento y atomización elegidas para el As.
Espectrofotómetro 4100

Recubrimiento	T ^a Atrapamiento/°C	T ^a Atomización/°C
Sin Recubrimiento	1000	2000
Ir	500	1800
Zr	1000	1700
U	1000	1900
La	1000	1700
Nb	1000	2000
Ta	1000	2000
BeO	1000	1900
CTa	1000	1700
W	1000	1900
VC	1000	1900
Cr ₂ O ₃	1000	1700
Cr ₃ C ₂	1000	1900

Tiempos de atrapamiento

Se ensayan tiempos de atrapamiento de 10 a 60 s para los recubrimientos de Ir, Zr, U, La, CTa, W, VC, Cr₂O₃ y Cr₃C₂, utilizando las temperaturas seleccionadas anteriormente.

Se rechazan los recubrimientos de Ta, Nb y tubos de grafito sin recubrir debido a la menor eficiencia de atrapamiento que proporcionan.

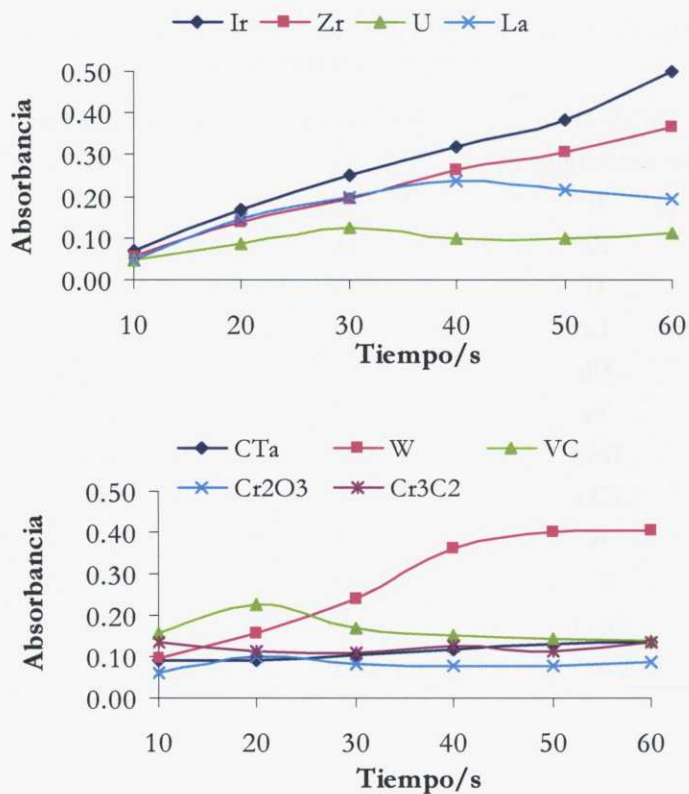


Figura 22. Efecto del tiempo de atrapamiento correspondiente a los distintos recubrimientos estudiados para el As. Espectrofotómetro 4100 (calentamiento longitudinal)

Los mejores resultados se obtienen para Ir y Zr, para los que se observa que la señal aumenta linealmente al aumentar el tiempo de atrapamiento. Para los demás tubos se observa una saturación de la superficie del tubo a los 20-30 s.

Espectrofotómetro Aanalyst 800

Por todo lo anterior, solamente se ensayarán en el espectrofotómetro Aanalyst 800 (equipado con un horno de calentamiento transversal) los recubrimientos de Ir, Zr, U y La ya que con ellos se obtienen los mejores resultados.

Para estudiar la temperatura de atomización y atrapamiento se utiliza un tiempo de atrapamiento de 30 s y se sigue el programa de temperaturas dado anteriormente en la **Tabla 35**.

Temperaturas de atrapamiento

Se estudian temperaturas de atrapamiento entre 20°C y 1000°C fijando la temperatura de atomización en 1700°C.

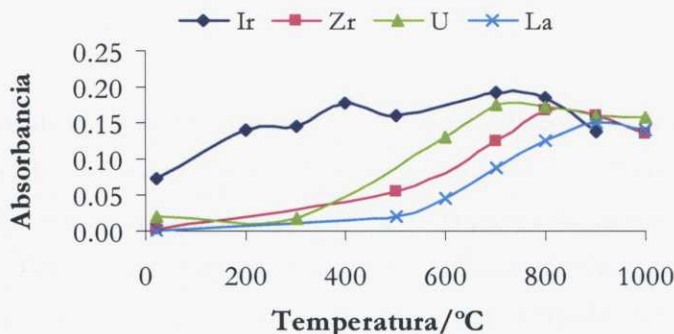


Figura 23. Temperatura de atrapamiento correspondiente a los distintos recubrimientos estudiados para el As. Espectrofotómetro Aanalyst 800 (calentamiento transversal)

Las menores temperaturas de atrapamiento se observan para tubos recubiertos con Ir y U. En general, todas las temperaturas son similares al espectrofotómetro 4100.

Temperaturas de atomización

Se estudian temperaturas de atomización entre 1600 y 2400°C fijando la temperatura de atrapamiento en 1000°C.

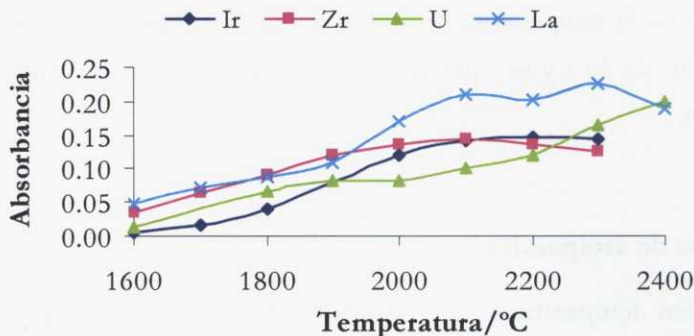


Figura 24. Temperatura de atomización correspondiente a los distintos recubrimientos estudiados para el As. Espectrofotómetro Aanalyst 800 (calentamiento transversal)

En la **Figura 24** se puede ver que al aumentar la temperatura de atomización, la sensibilidad se mantiene constante. Para el tubo recubierto con U se observa la aparición de dobles picos a temperaturas de atomización superiores a 2100°C y para el caso de tubos recubiertos con La a temperaturas superiores a 1700°C. En todos los recubrimientos se observa un comportamiento similar obteniéndose buenas sensibilidades alrededor de 2100°C.

Las temperaturas elegidas para los cuatro recubrimientos estudiados se muestran en la **Tabla 37**.

Tabla 37. Temperaturas de atrapamiento y atomización elegidas para el As.
Espectrofotómetro Aanalyst 800

Recubrimiento	Tª Atrapamiento/°C	Tª Atomización/°C
Ir	700	2200
Zr	800	2100
U	700	2200
La	900	1600

Los resultados obtenidos utilizando un horno de grafito de calentamiento transversal son similares a los publicados por Haug y Liao, los cuales atraparon la arsina en tubos recubiertos con Zr e Ir a 750-800°C y 400-800°C respectivamente, mientras que para tubos recubiertos con Nb, Ta, W y sin recubrir no obtuvieron respuesta [45]. Estos autores utilizan además, temperaturas de atomización de 2100°C para tubos de grafito recubiertos con Zr. Murphy y col. [46] determinaron As en tubos de grafito recubiertos con Zr e Ir utilizando 300 y 2200°C de temperatura de atrapamiento y atomización respectivamente para ambos recubrimientos.

Tiempos de atrapamiento

Se ensayan tiempos de atrapamiento de 10 a 60 s para los recubrimientos de Ir, Zr, U y La utilizando las temperaturas elegidas anteriormente.

En este caso se observa un comportamiento lineal para los cuatro recubrimientos, mejorando los resultados obtenidos con el espectrofotómetro 4100 con el que solamente se conseguía este comportamiento para los recubrimientos con Ir y Zr.

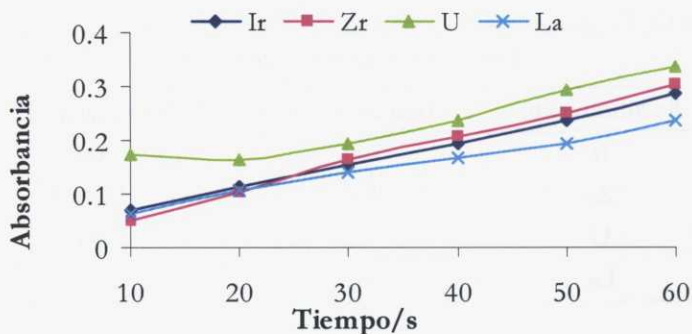


Figura 25. Tiempos de atrapamiento correspondiente a los distintos recubrimientos estudiados para el As

4.1.2. Hidruro de Bi

Este estudio se lleva a cabo utilizando las condiciones de generación del hidruro de Bi optimizadas previamente (**Tabla 23**).

Se estudian primero las temperaturas de atrapamiento y atomización, manteniendo un tiempo de atrapamiento de 30 s y utilizando el programa de temperaturas del horno dado en la **Tabla 35**. La concentración de patrón de Bi utilizada fue de $5 \mu\text{g L}^{-1}$.

Temperatura de atrapamiento

Se estudian temperaturas de atrapamiento entre 20°C y 1000°C fijando la temperatura de atomización en 1500°C . Este estudio no se realizará para el recubrimiento de Ir, debido a que las temperaturas y tiempos fueron optimizadas en el apartado anterior (**apartado 3**).

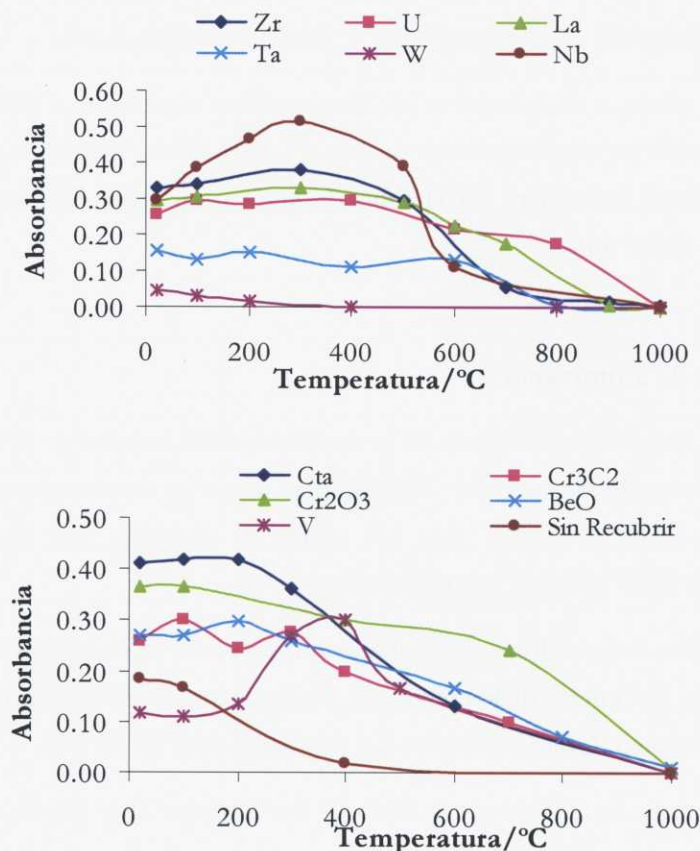


Figura 26. Temperatura de atrapamiento correspondiente a los distintos recubrimientos estudiados para el Bi

Como se muestra en la **Figura 26** la eficiencia del atrapamiento disminuye a temperaturas de atrapamiento altas. Para los recubrimientos de Zr, U, La, Cr₃C₂ y Nb se obtiene una disminución de la eficiencia del atrapamiento a temperaturas superiores a 400°C, mientras que para los recubrimientos de Cta, Cr₂O₃ y BeO se observa el mismo efecto a temperaturas superiores a 200°C. Además, se obtiene un valor constante de eficiencia a todas las temperaturas para los recubrimientos de W y

Ta, mientras que para el recubrimiento de V y tubos de grafito sin recubrir, se observa un máximo de absorbancia a 400°C y 20°C respectivamente.

Por otra parte, a temperaturas de atrapamiento superiores a 600°C, aparecen dobles picos para los recubrimientos de Nb y Cr₂O₃. Dicha aparición es debida a la deposición parcial del analito en el tubo de grafito, en lugar de depositarse en la plataforma de dicho tubo.

Temperatura de atomización

Como se muestra en la **Figura 27** la atomización del hidruro de Bi es completa a bajas temperaturas de atomización (1500°C) para todos los recubrimientos estudiados excepto para Cr₃C₂ y Cr₂O₃, para los cuales es necesaria una temperatura de atomización de 2500 y 2300°C respectivamente.

Tanto a altas temperaturas de atrapamiento como de atomización se observa un empeoramiento en el perfil de los picos, así, a temperaturas de atomización superiores a 2100°C se obtienen dobles picos para los recubrimientos de Zr y U.

Teniendo esto en cuenta y a la vista de las **Figuras 26 y 27**, las temperaturas elegidas se muestran en la **Tabla 38**.

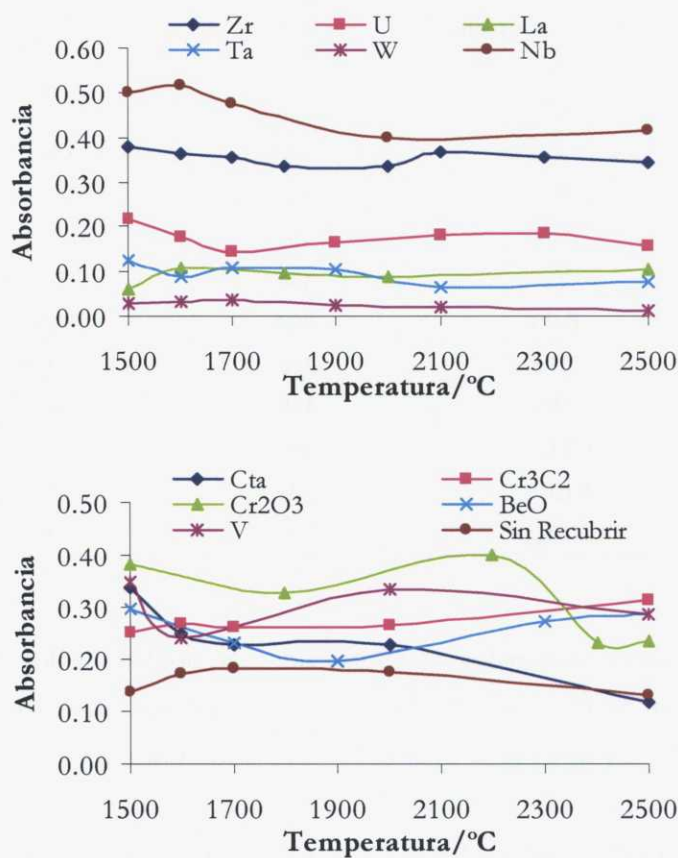


Figura 27. Temperatura de atomización correspondiente a los distintos recubrimientos estudiados para el Bi

Tabla 38. Temperaturas de atrapamiento y atomización elegidas para el Bi

Recubrimiento	T ^a Atrapamiento/°C	T ^a Atomización/°C
Sin Recubrimiento	20	1700
Ir	1000	1500
Zr	300	1500
U	400	1500
La	400	1600
Nb	300	1600
Ta	300	1500
BeO	200	1500
CTa	200	1500
W	300	1500
VC	400	1500
Cr ₂ O ₃	200	2300
Cr ₃ C ₂	300	2500

Los resultados mostrados anteriormente son similares a los recogidos en la bibliografía, donde Haug y col. obtuvieron temperaturas de atrapamiento de 100-500°C, 200-300°C y 200-700°C para el Bi con los recubrimientos de Zr, Nb, Ta, W e Ir respectivamente [45]. Además, Murphy y col. obtuvieron temperaturas de atrapamiento/atomización de 300/2200°C para atrapar el hidruro de Bi en tubos de grafito recubiertos con Zr [46].

Tiempos de atrapamiento

Se estudian tiempos de atrapamiento entre 10-60 s para todos los recubrimientos. Los resultados (**Figura 28**) muestran tiempos de atrapamiento óptimos de 20-30 s para todos los recubrimientos.

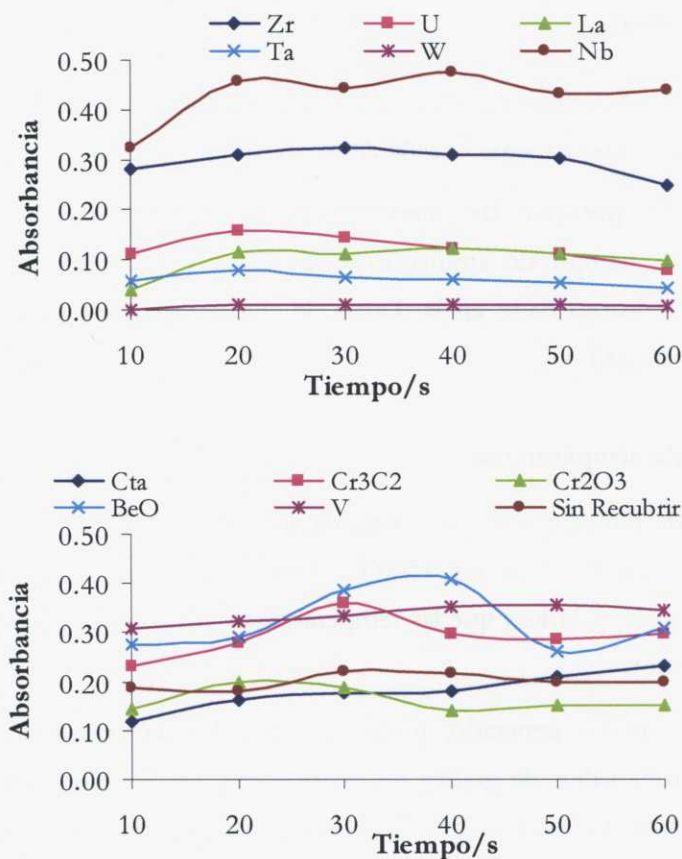


Figura 28. Tiempos de atrapamiento correspondiente a los distintos recubrimientos estudiados para el Bi

Para este elemento, no se continuará con el estudio del recubrimiento de W y Cr_3C_2 debido a que dichos recubrimientos presentan dobles picos. Tampoco se estudiarán los tubos sin recubrir, debido a la baja sensibilidad obtenida con ellos en comparación con los tubos recubiertos.

4.1.3. Hidruro de Ge

Este estudio se lleva a cabo utilizando las condiciones de generación del hidruro de Ge optimizadas previamente (**Tabla 23**).

Se estudian primero las temperaturas de atrapamiento y atomización, manteniendo un tiempo de atrapamiento de 30 s y utilizando el programa de temperaturas del horno dado en la **Tabla 35**. La concentración de patrón de Ge utilizada fue de $10 \mu\text{g L}^{-1}$.

Temperatura de atrapamiento

Se estudian temperaturas de atrapamiento entre 20°C y 1000°C fijando la temperatura de atomización en 1500°C . Este estudio no se realizará para el recubrimiento de Ir, debido a que las temperaturas y tiempos fueron optimizadas en el apartado anterior.

El hidruro de Ge generado, presenta una pobre eficiencia de atrapamiento cuando empleamos tubos de grafito recubiertos con Ta, W, Nb, CTa, BeO, Cr_3C_2 , Cr_2O_3 , VC y tubos sin recubrir, por lo que estos recubrimientos no se considerarán en el presente estudio.

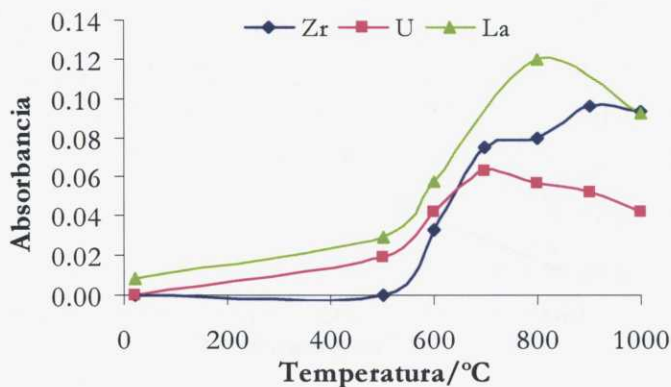


Figura 29. Temperatura de atrapamiento correspondiente a los distintos recubrimientos estudiados para el Ge

A la vista de la **Figura 29** se puede decir que la eficiencia del atrapamiento aumenta para temperaturas superiores a 500°C para los tres recubrimientos estudiados. Así, la absorbancia del hidruro de Ge alcanza valores óptimos entre 700-800°C, disminuyendo a continuación, excepto para el Zr, donde esta disminución no se aprecia.

Temperaturas de atomización

Se estudiaron temperaturas de atomización entre 1500 y 2500 °C, fijando la temperatura de atrapamiento en 1000°C. Los resultados se muestran en la **Figura 30**.

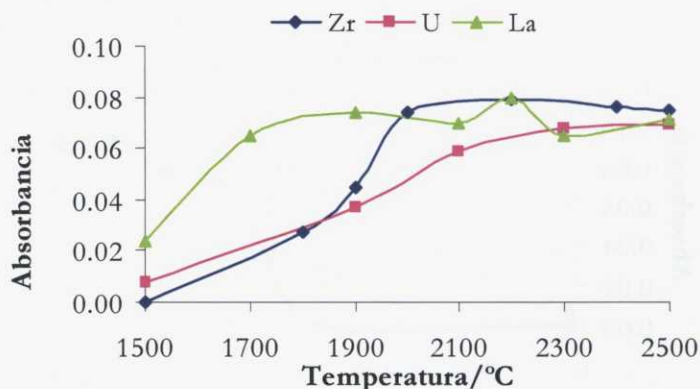


Figura 30. Temperaturas de atomización correspondiente a los distintos recubrimientos estudiados para el Ge

Como se observa en la **Figura 30**, la eficiencia en la atomización aumenta al aumentar la temperatura. Además, a temperaturas de atrapamiento y atomización bajas, se observa la aparición de doubles picos.

Teniendo esto en cuenta y a la vista de las **Figuras 29 y 30**, las temperaturas elegidas se muestran en la **Tabla 39**.

Tabla 39. Temperaturas de atrapamiento y atomización elegidas para el Ge

Recubrimiento	T ^a Atrapamiento/°C	T ^a Atomización/°C
Zr	1000	2500
U	700	2500
La	1000	2200

Tiempos de atrapamiento

Se estudian tiempos de atrapamiento entre 10-60 s para todos los recubrimientos. Los resultados (**Figura 31**) muestran tiempos de atrapamiento óptimos de 10 s para todos los recubrimientos.

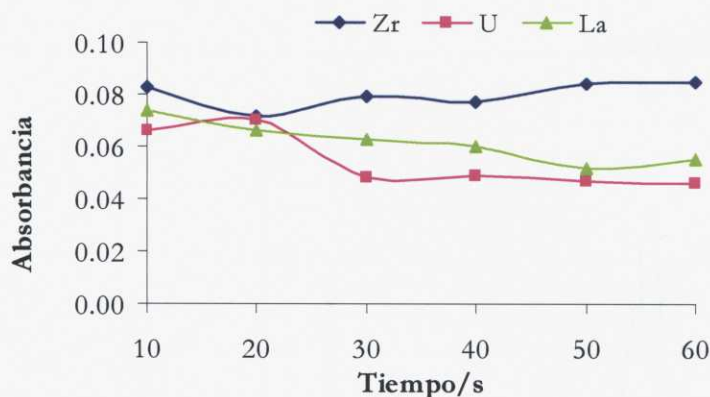


Figura 31. Tiempos de atrapamiento correspondiente a todos los recubrimientos estudiados para el Ge

Las temperaturas de atrapamiento y atomización elegidas son similares a las obtenidas por Haug y col. y Ni y col. quienes utilizan temperaturas de atrapamiento/atomización para tubos de grafito recubiertos con Zr de 600/700°C y 2500°C y 800°C y 2600°C, respectivamente [52,68].

4.2. PERFILES DE ABSORBANCIA

A continuación, se lleva a cabo un estudio de los perfiles de absorbancia obtenidos para los recubrimientos estudiados. Estos perfiles se corresponden con patrones acuosos de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de As, $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Bi y $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de Ge.

Hidruro de arsénico

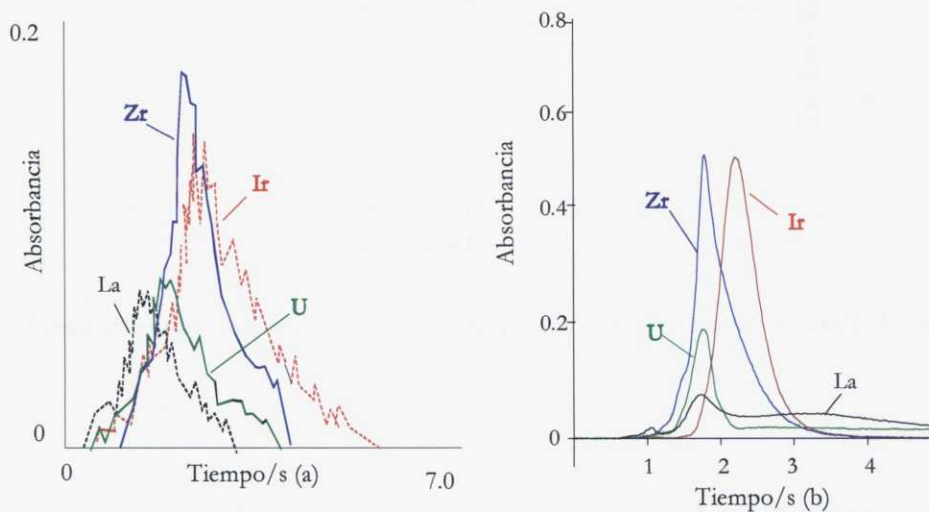


Figura 32. Perfiles de absorbancia correspondientes a los recubrimientos estudiados para el As. Espectrofotómetro 4100 (a) y Aanalyst 800 (b)

Como puede observarse en la **Figura 32 (a)**, utilizando tubos de grafito recubiertos con Zr se obtiene la mejor forma de pico cuando se utiliza el espectrofotómetro 4100. El uso de tubos recubiertos con La y U proporciona picos con menores alturas.

Para el equipo Aanalyst 800 (**Figura 32 (b)**), la mejor forma de pico se corresponde con el uso de tubos de grafito recubiertos con Ir y Zr. Además, para el uso de tubos recubiertos con U y La los perfiles de absorbancia presentan colas.

Finalmente, podemos decir que los perfiles de absorbancia proporcionados por Aanalyst 800 son mejores que los proporcionados por el 4100. Esto es debido a que el equipo Aanalyst 800 está equipado con una lámpara de descarga sin electrodos la cual proporciona mayor sensibilidad y estabilidad que la lámpara de cátodo hueco.

Hidruro de bismuto

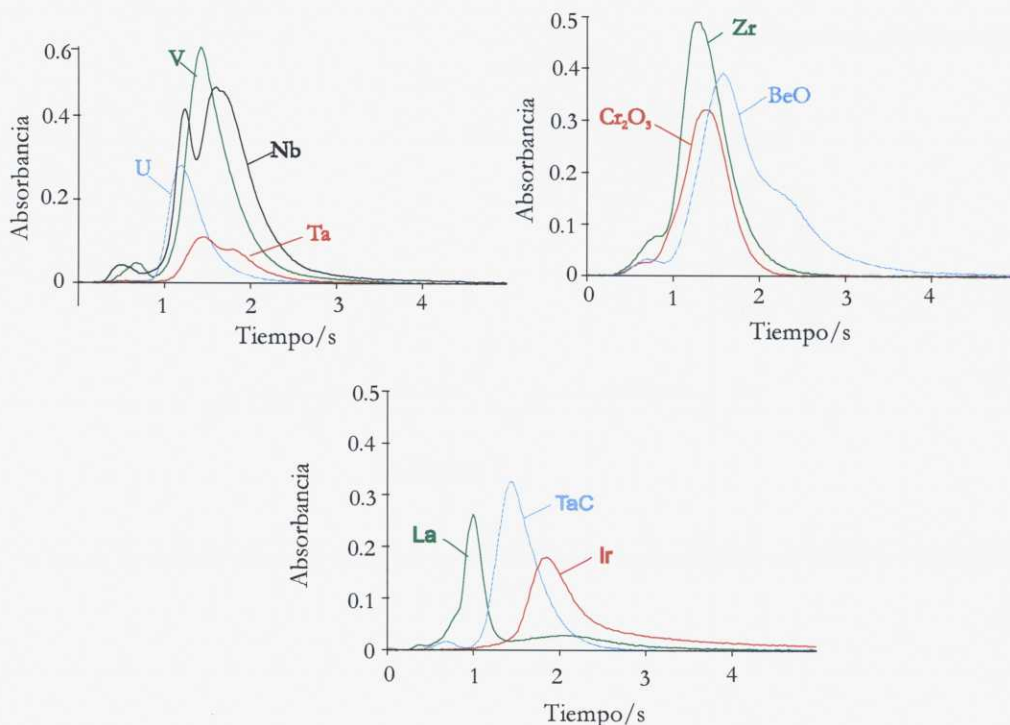


Figura 33. Perfiles de absorbancia correspondiente a los recubrimientos estudiados para el Bi

Como se observa en la **Figura 33**, los mejores perfiles de absorbancia (mayor altura de pico, altamente simétricos y sin colas) corresponden a los recubrimientos de Zr y U, mientras que el recubrimiento de Ta es el que produce menores alturas de pico.

Los tubos recubiertos con La son los que ofrecen peores perfiles de picos y colas, mientras que los tubos recubiertos con V muestran un doble pico inicial.

Se observan también dobles picos y colas en los tubos recubiertos con Cr_2O_3 , Nb y BeO.

Hidruro de germanio

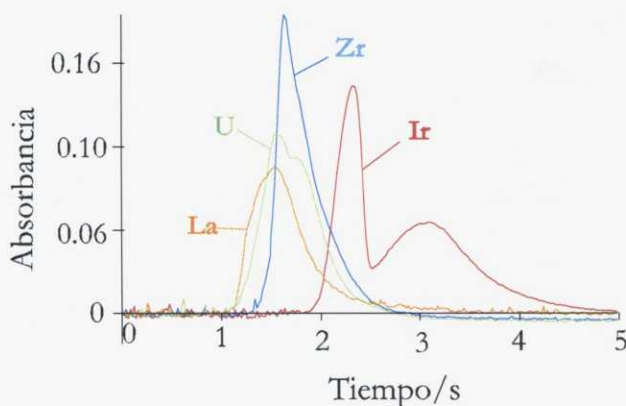


Figura 34. Perfiles de absorbancia correspondiente a los recubrimientos estudiados para el Ge

En la **Figura 34** se observan adecuados perfiles de pico para los recubrimientos de Zr, La y U, mientras que los tubos recubiertos con Ir ofrecen colas y un doble pico al final. El mejor perfil de absorbancia corresponde al recubrimiento de Zr.

4.3. CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DE LOS MÉTODOS

En este apartado se realiza un estudio comparativo de las características analíticas (rectas de calibrado y adición, límites de detección, sensibilidad, precisión y exactitud) para los distintos recubrimientos seleccionados para los tres elementos estudiados.

4.3.1. Rectas de calibrado y adición

A continuación se muestran las rectas de calibrado y adición obtenidas para la determinación As(III) y As inorgánico total, Bi y Ge correspondiente a cada recubrimiento.

Arsénico

Para la determinación de ***Arsénico*** este estudio se realizó en los dos equipos utilizados hasta ahora. Las temperaturas de atrapamiento y atomización elegidas para la realización de dicho estudio son las indicadas en las **Tablas 36 y 37** y para ambos casos se utilizó un tiempo de atrapamiento de 30 s para los tubos recubiertos con Zr, Ir, U y La.

Las rectas de calibrado fueron preparadas con concentraciones de 0, 2.5 y 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As, mientras que en las rectas de adición se adicionaron volúmenes adecuados de disolución patrón de As (para obtener concentraciones de 0, 2.5 y 5 $\mu\text{g L}^{-1}$) a 20 mL de agua de mar y 5 mL de agua termal respectivamente, para determinar el posible efecto matriz. El volumen final fue de 25 mL. Los resultados se muestran en las **Tablas 40-41 y Figuras 35-42**.

Tabla 40. Rectas de calibrado y adición para la determinación de As(III) y As inorgánico total obtenidas con el espectrofotómetro 4100 para los distintos recubrimientos estudiados

Recubrimiento		As(III)	As inorgánico total
Ir	Calibrado	$Ab=0.009+0.030[As]$	$Ab=0.030+0.026[As]$
	Adición mar	$Ab=0.033+0.027[As]$	$Ab=0.078+0.038[As]$
	Adición termal	$Ab=0.036+0.022[As]$	$Ab=0.076+0.042[As]$
Zr	Calibrado	$Ab=0.007+0.029[As]$	$Ab=0.008+0.029[As]$
	Adición mar	$Ab=-0.001+0.031[As]$	$Ab=0.063+0.023[As]$
	Adición termal	$Ab=0.042+0.021[As]$	$Ab=0.071+0.024[As]$
La	Calibrado	$Ab=0.002+0.026[As]$	$Ab=0.011+0.024[As]$
	Adición mar	$Ab=0.013+0.032[As]$	$Ab=0.039+0.021[As]$
	Adición termal	$Ab=0.033+0.026[As]$	$Ab=0.041+0.022[As]$
U	Calibrado	$Ab=0.016+0.015[As]$	$Ab=0.002+0.010[As]$
	Adición mar	$Ab=0.048+0.016[As]$	$Ab=0.024+0.011[As]$
	Adición termal	$Ab=0.051+0.015[As]$	$Ab=0.039+0.011[As]$

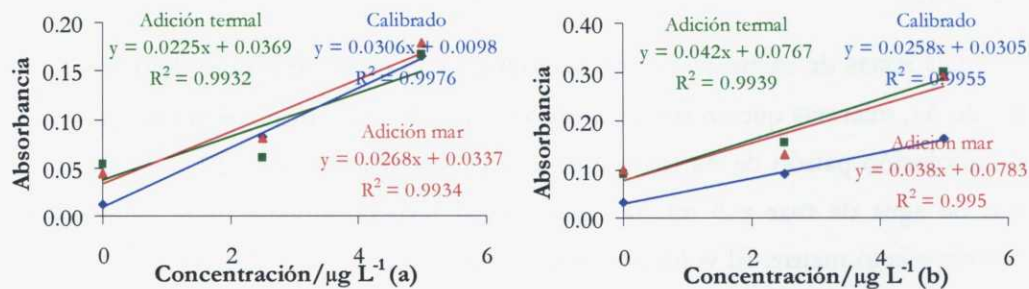


Figura 35. Rectas de calibrado y adición para la determinación de As(III) (a) y As inorgánico total (b) obtenidas con el espectrofotómetro 4100. Tubo de grafito recubierto con Ir

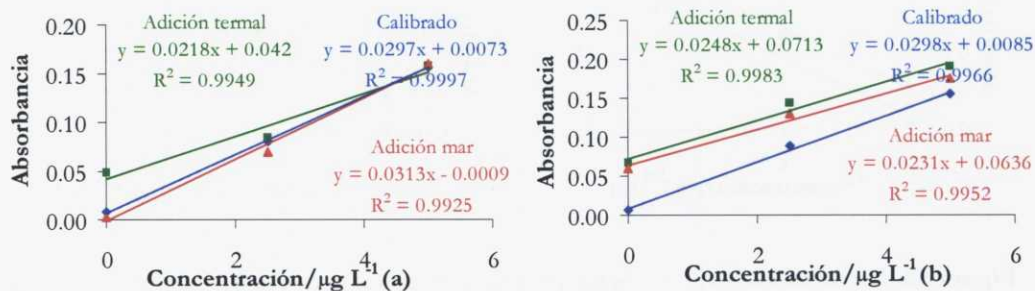


Figura 36. Rectas de calibrado y adición para la determinación de As(III) (a) y As inorgánico total (b) obtenidas con el espectrofotómetro 4100. Tubo de grafito recubierto con Zr

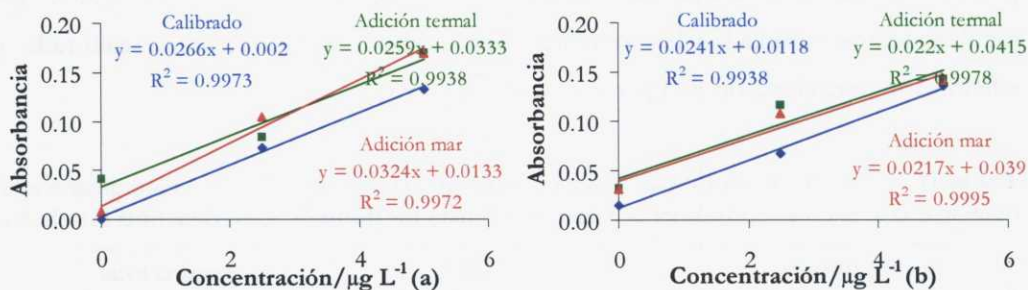


Figura 37. Rectas de calibrado y adición para la determinación de As(III) (a) y As inorgánico total (b) obtenidas con el espectrofotómetro 4100. Tubo de grafito recubierto con La

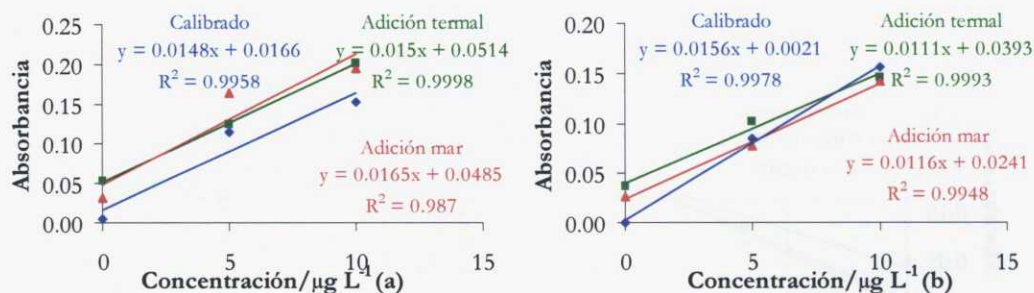


Figura 38. Rectas de calibrado y adición para la determinación de As(III) (a) y As inorgánico total (b) obtenidas con el espectrofotómetro 4100. Tubo de grafito recubierto con U

Tras las aplicación del test que compara la similitud de la varianza y las pendientes de dos líneas de regresión, se comprobó que para todos los recubrimientos estudiados las varianzas son similares y las rectas de calibrado y adición son paralelas a un nivel de confianza del 95%.

Tabla 41. Rectas de calibrado y adición para la determinación de As(III) y As inorgánico total obtenidas con el espectrofotómetro Aanalyst 800 para los distintos recubrimientos estudiados

Recubrimiento		As(III)	As inorgánico total
Ir	Calibrado	$Ab=0.001+0.062[As]$	$Ab=0.033+0.070[As]$
	Adición mar	$Ab=0.030+0.063[As]$	$Ab=0.130+0.070[As]$
	Adición termal	$Ab=0.037+0.053[As]$	$Ab=0.157+0.067[As]$
Zr	Calibrado	$Ab=0.001+0.061[As]$	$Ab=-0.010+0.069[As]$
	Adición mar	$Ab=0.029+0.064[As]$	$Ab=0.136+0.063[As]$
	Adición termal	$Ab=0.033+0.059[As]$	$Ab=0.147+0.058[As]$
La	Calibrado	$Ab=0.005+0.027[As]$	$Ab=0.012+0.029[As]$
	Adición mar	$Ab=0.038+0.024[As]$	$Ab=0.087+0.024[As]$
	Adición termal	$Ab=0.044+0.021[As]$	$Ab=0.106+0.021[As]$
U	Calibrado	$Ab=-0.002+0.026[As]$	$Ab=0.005+0.043[As]$
	Adición mar	$Ab=0.051+0.020[As]$	$Ab=0.096+0.034[As]$
	Adición termal	$Ab=0.060+0.017[As]$	$Ab=0.053+0.041[As]$

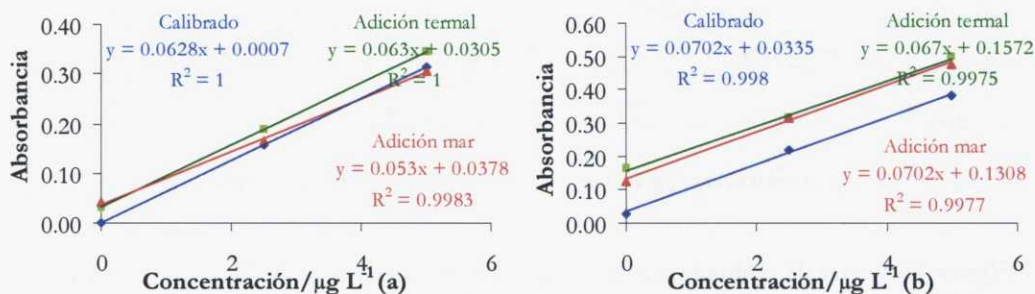


Figura 39. Rectas de calibrado y adición para la determinación de As(III) (a) y As inorgánico total (b) obtenidas con el espectrofotómetro Analyst 800. Tubo de grafito recubierto con Ir

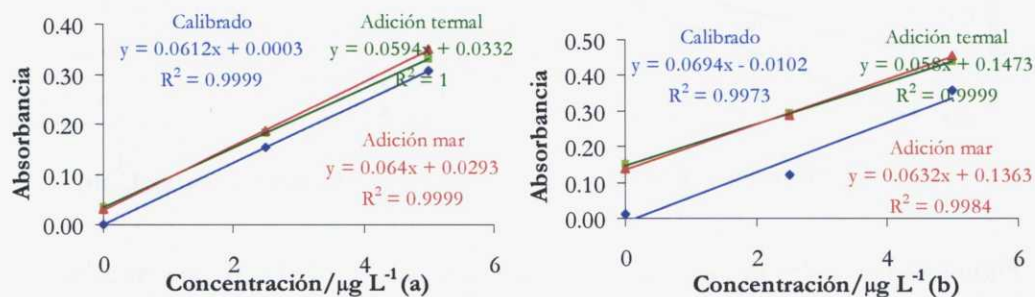


Figura 40. Rectas de calibrado y adición para la determinación de As(III) (a) y As inorgánico total (b) obtenidas con el espectrofotómetro Analyst 800. Tubo de grafito recubierto con Zr

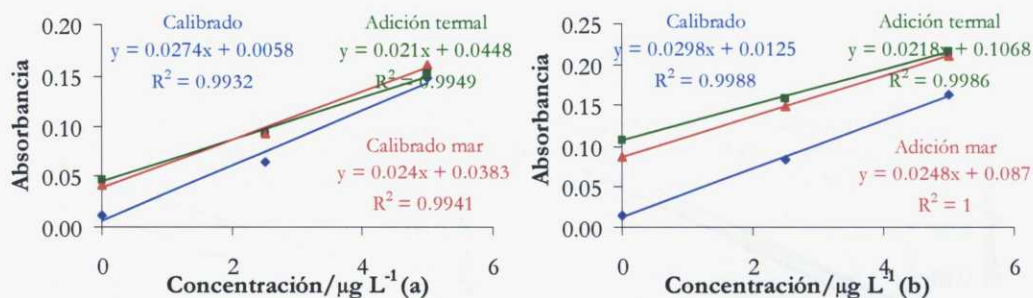


Figura 41. Rectas de calibrado y adición para la determinación de As(III) (a) y As inorgánico total (b) obtenidas con el espectrofotómetro Analyst 800. Tubo de grafito recubierto con La

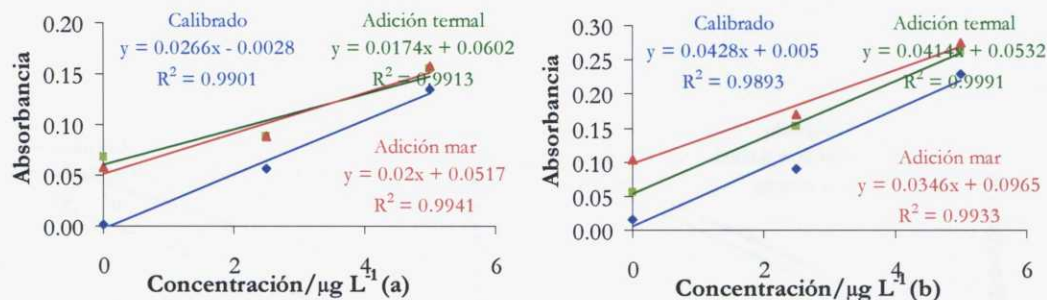


Figura 42. Rectas de calibrado y adición para la determinación de As(III) (a) y As inorgánico total (b) obtenidas con el espectrofotómetro Analyst 800. Tubo de grafito recubiertos con U

Como puede observarse en las figuras, el efecto matriz es poco importante, lo que se comprobó aplicando el test de comparación de las pendientes, que resultaron ser paralelas para todos los recubrimientos estudiados al 95% de confianza. Además, se observa que las pendientes obtenidas con el empleo del espectrofotómetro Analyst 800 son mayores que en el espectrofotómetro 4100.

Bismuto

En la determinación del **Bismuto**, las rectas de calibrado fueron preparadas con concentraciones de 0, 2.5, 5 y 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Bi, mientras que en las rectas de adición se adicionaron volúmenes adecuados de disolución patrón de Bi (para obtener concentraciones de 0, 2.5, 5 y 10 $\mu\text{g L}^{-1}$) a 5 mL de agua de mar y 2 mL de agua termal para determinar el posible efecto matriz. El volumen final fue de 25 mL. Los resultados se muestran en la **Tabla 42** y **Figura 43-47**.

Tabla 42. Rectas de calibrado y adición para la determinación de Bi correspondiente a los recubrimientos estudiados

	Calibrado	Adición mar	Adición termal
Zr	$Ab=0.019+0.041[Bi]$	$Ab=0.033+0.129[Bi]$	$Ab=0.041+0.100[Bi]$
U	$Ab=0.017+0.052[Bi]$	$Ab=0.003+0.107[Bi]$	$Ab=0.050+0.090[Bi]$
La	$Ab=-0.010+0.023[Bi]$	$Ab=0.010+0.058[Bi]$	$Ab=0.051+0.064[Bi]$
Ta	$Ab=0.005+0.060[Bi]$	$Ab=-0.020+0.101[Bi]$	$Ab=0.039+0.060[Bi]$
Nb	$Ab=0.006+0.076[Bi]$	$Ab=0.017+0.117[Bi]$	$Ab=0.008+0.083[Bi]$
CTa	$Ab=0.009+0.019[Bi]$	$Ab=0.021+0.046[Bi]$	$Ab=0.033+0.030[Bi]$
CrO	$Ab=0.004+0.038[Bi]$	$Ab=0.027+0.093[Bi]$	$Ab=0.053+0.087[Bi]$
BeO	$Ab=0.009+0.036[Bi]$	$Ab=0.050+0.122[Bi]$	$Ab=0.095+0.105[Bi]$
V	$Ab=0.017+0.054[Bi]$	$Ab=0.033+0.122[Bi]$	$Ab=0.085+0.115[Bi]$

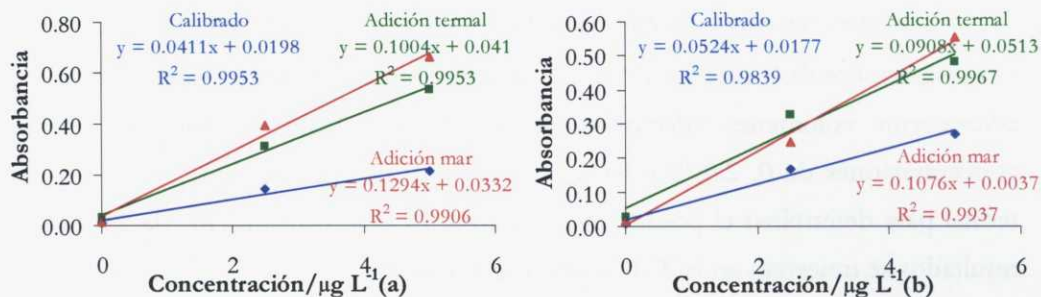


Figura 43. Rectas de calibrado y adición para la determinación de Bi obtenidas con el tubo de grafito recubierto con Zr (a) y U (b)

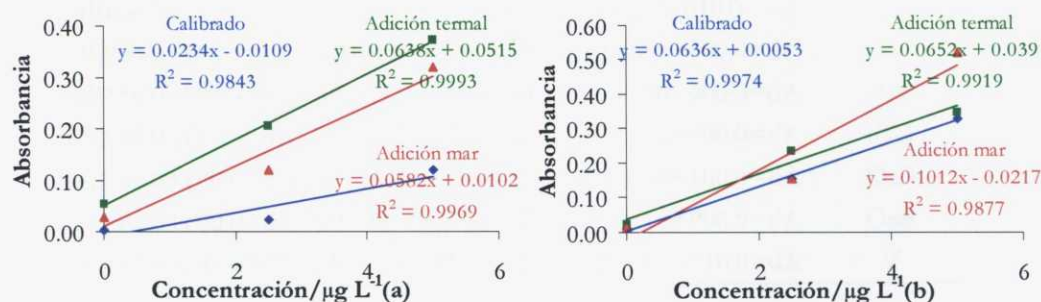


Figura 44. Rectas de calibrado y adición para la determinación de Bi obtenidas con el tubo de grafito recubierto con La (a) y Ta (b)

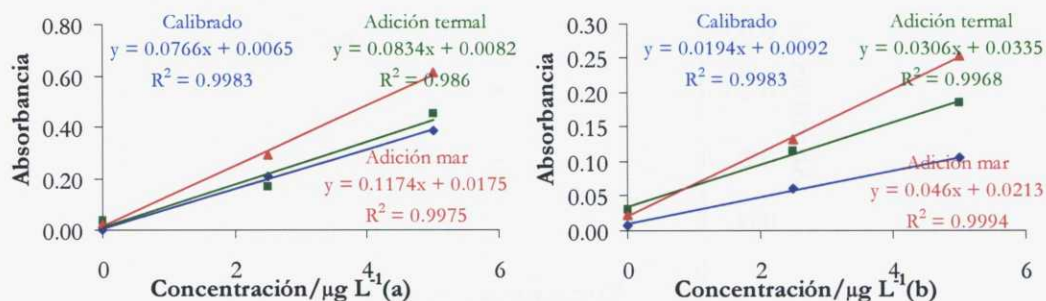


Figura 45. Rectas de calibrado y adición para la determinación de Bi obtenidas con el tubo de grafito recubierto con Nb (a) y CTa (b)

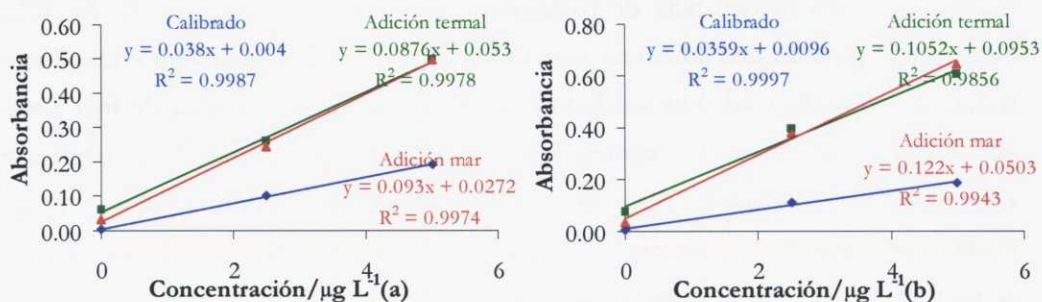


Figura 46. Rectas de calibrado y adición para la determinación de Bi obtenidas con el tubo de grafito recubierto con Cr_2O_3 (a) y BeO (b)

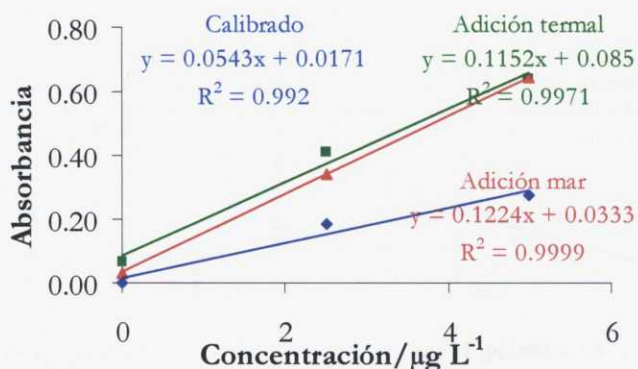


Figura 47. Rectas de calibrado y adición para la determinación de Bi obtenidas con el tubo de grafito recubierto con V

Se compararon las rectas de calibrado y adición mediante un test t al 95% de confianza, observándose falta de paralelismo para los recubrimientos de Zr, CTa, CrO y BeO para las dos adiciones estudiadas. Para los tubos recubiertos con Ta las rectas de calibrado y adición resultaron ser paralelas tanto para agua de mar como agua termal. Para los recubrimientos de U y V las rectas de calibrado y de adición de agua termal son paralelas al 95% de confianza, mientras que con agua de mar no. Finalmente, para el recubrimiento de La, la pendiente de la recta de adición de agua de mar resultó ser significativamente igual que la pendiente de la recta de calibrado, no siendo así la termal.

Germanio

En la determinación del **Germanio**, las rectas de calibrado fueron preparadas con concentraciones de 0, 10, y 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Ge, mientras que en las rectas de adición se adicionaron volúmenes adecuados de disolución patrón de Ge (para obtener concentraciones de 0, 10 y 20 $\mu\text{g L}^{-1}$) a 5 mL de agua de mar y 2 mL de agua termal para determinar el posible efecto matriz. Estas disoluciones se llevaron a un volumen final de 25 mL. Los resultados se muestran en la **Tabla 43** y **Figura 48**.

Tabla 43. Rectas de calibrado y adición para la determinación de Ge correspondientes a los recubrimientos estudiados

	Calibrado	Adición mar	Adición termal
Zr	$Ab = -0.001 + 0.008[Ge]$	$Ab = 0.002 + 0.008[Ge]$	$Ab = 0.002 + 0.005[Ge]$
U	$Ab = -0.003 + 0.006[Ge]$	$Ab = -0.003 + 0.004[Ge]$	$Ab = 0.000 + 0.007[Ge]$
La	$Ab = -0.008 + 0.008[Ge]$	$Ab = 0.007 + 0.006[Ge]$	$Ab = 0.002 + 0.007[Ge]$

En la **Tabla 43** se observa que la ordenada del calibrado acuoso es del mismo orden que la ordenada de la adición de mar y termal, por lo tanto, no se tiene suficiente sensibilidad para determinar Ge en dichas matrices.

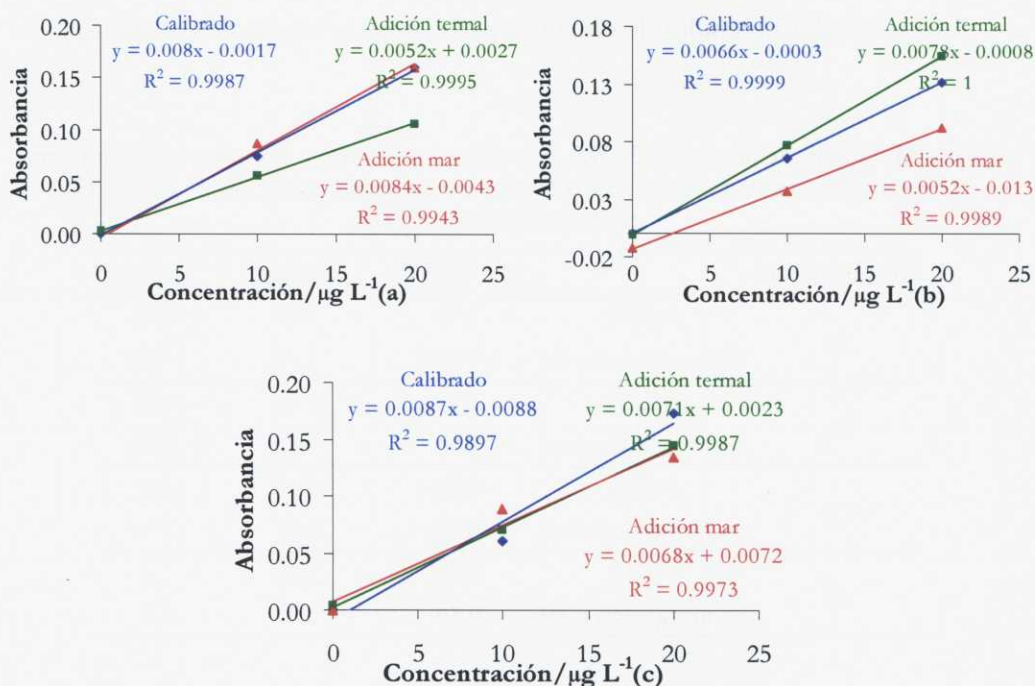


Figura 48. Rectas de calibrado y adición para la determinación de Ge obtenidas con los tubos de grafito recubiertos con Zr (a), U (b) y La (c)

Como puede observarse en la **Figura 48**, el efecto matriz es poco importante y los blancos obtenidos son bajos para los tres recubrimientos estudiados. Estadísticamente se comprobó que las pendientes de calibrado y adición son similares al 95% de confianza para todos los recubrimientos, excepto en el caso de la adición de agua termal con el recubrimiento de Zr.

4.3.2. Límites de detección, cuantificación y masas características

La sensibilidad de los recubrimientos estudiados, se evaluó a partir de tres parámetros: límites de detección, cuantificación y masas característica. En la generación del hidruro de As, este estudio se realizó en los dos equipos utilizados hasta ahora y para los dos modos de generación de la arsina desarrollados (generación a partir de As (III) y a partir de As inorgánico total).

Los resultados obtenidos de estos tres parámetros se muestran a continuación:

Tabla 44. Límites de detección (LOD), cuantificación (LOQ) y masas características (m_0) obtenidas para los recubrimientos estudiados en la determinación de As con el espectrofotómetro 4100

Recubrimiento		LOD/ $\mu\text{g L}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g L}^{-1}$	m_0/pg
Ir	As(III)	0.33	1.13	102
	As inorgánico total	0.49	1.63	78
Zr	As(III)	0.53	1.78	135
	As inorgánico total	0.34	1.15	126
La	As(III)	0.28	0.96	142
	As inorgánico total	0.50	1.67	178
U	As(III)	0.86	2.86	111
	As inorgánico total	0.39	1.32	121

Tabla 45. Límites de detección (LOD), cuantificación (LOQ) y masas características (m_0) obtenidas para los recubrimientos estudiados en la determinación de As con el espectrofotómetro Aanalyst 800

Recubrimiento		LOD/ $\mu\text{g L}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g L}^{-1}$	m_0/pg
Ir	As(III)	0.10	0.35	63
	As inorgánico total	0.15	0.50	50
Zr	As(III)	0.12	0.42	65
	As inorgánico total	0.15	0.50	45
La	As(III)	0.59	1.98	165
	As inorgánico total	0.40	1.30	130
U	As(III)	0.70	2.30	164
	As inorgánico total	0.30	1.00	80

Como se observa en las **Tablas 44 y 45**, con el espectrofotómetro Aanalyst 800 se obtiene mayor sensibilidad que con el espectrofotómetro 4100 para todos los recubrimientos y dentro de ellos, los de Ir y Zr son los que proporcionan menores límites de detección y masas características. Este hecho es debido a que el equipo Aanalyst 800 se encuentra equipado con lámparas de descarga sin electrodos que proporcionan una mayor sensibilidad que las lámparas de cátodo hueco utilizadas en la determinación de As con el equipo 4100.

Las masas características obtenidas con el espectrofotómetro Aanalyst 800 (que es el que ofrece una mayor sensibilidad) son similares a las obtenidas en la bibliografía para tubos recubiertos con Zr (43, 16 y 31 pg) [44,45,69], Ir (44 pg) [44], Ir-Zr (30 pg) [17] e Ir-W (44 pg) [17]. Los tubos de grafito recubiertos con Pd ofrecen menores masas características (11 pg) [44], pero tienen los inconvenientes descritos anteriormente, referidos a la limitada permanencia de dicho recubrimiento en el tubo de grafito.

Tabla 46. Límites de detección, cuantificación y masas características obtenidas para los recubrimientos estudiados en la determinación de Bi

Recubrimiento	LOD/ $\mu\text{g L}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g L}^{-1}$	m_0/pg
Zr	0.20	0.60	47
U	0.07	0.24	38
La	0.21	0.71	94
Ta	0.14	0.35	36
Nb	0.10	0.33	28
TaC	0.25	0.73	109
Cr ₂ O ₃	0.18	0.65	56
BeO	0.16	0.45	57
V	0.04	0.13	35

Como se observa en la **Tabla 46**, la mejor sensibilidad para el atrapamiento del hidruro de Bi se corresponden con los recubrimientos de U, Ta, Nb y V. Las masas características obtenidas son similares a las encontradas en la bibliografía para tubos de grafito recubiertos con Pd (16, 28 y 34 pg) [16,29,47] y mejores que las encontradas para tubos de grafito recubiertos con Ir e Ir/Zr (91 y 176 pg) [17,46].

Como se observa en la **Tabla 47**, para la determinación del hidruro de Ge, la mejor sensibilidad se obtiene con los tubos de grafito recubiertos con Zr.

En la bibliografía sólo se conoce un estudio de recubrimientos permanentes (Ir, Zr, Nb, Ta, W) para atrapar el hidruro de Ge [52], donde se propone el Zr como recubrimiento ideal, con una masa característica de 170 pg. Para tubos recubiertos con Pd se obtienen menores masas características (25.9 pg, 12 pg, 26 pg, 49 pg y 40 pg) [29,47-50]. Además, se han propuesto masas características de 38 y 55 pg para tubos recubiertos con Pd/Mg [50,52].

Tabla 47. Límites de detección (LOD), cuantificación (LOQ) y masas características (m_0) obtenidas para los recubrimientos estudiados en la determinación de Ge

Recubrimiento	LOD/ $\mu\text{g L}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g L}^{-1}$	m_0/pg
Zr	2.2	7.1	284
U	1.14	3.8	336
La	1.28	4.2	310

4.3.3. Precisión

Para estudiar la precisión de los recubrimientos estudiados, se toman muestras de agua de mar y de agua termal a las que se añaden concentraciones distintas de cada metal y se estudia la repetibilidad con la concentración para cada metal. Los resultados, expresados como *desviación estándar relativa (RSD)* se muestran a continuación:

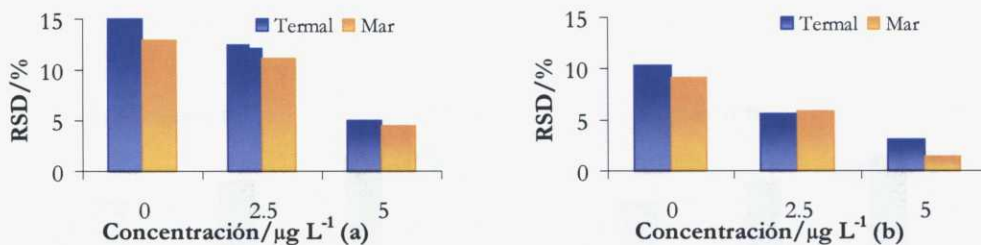


Figura 49. Desviación estándar relativa para la determinación de As(III) (a) y As inorgánico total (b) correspondiente a tubos recubiertos con Ir en el espectrofotómetro 4100

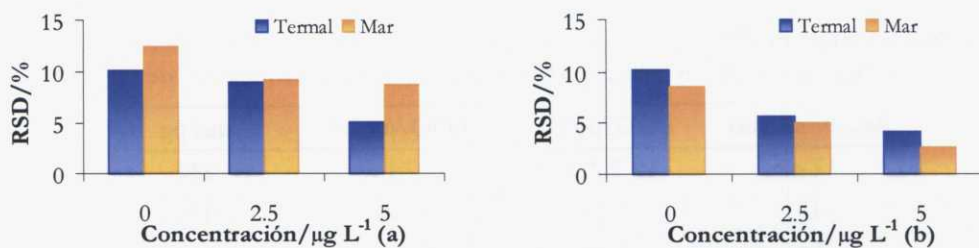


Figura 50. Desviación estándar relativa para la determinación de As(III) (a) y As inorgánico total (b) correspondiente a tubos recubiertos con Zr en el espectrofotómetro 4100

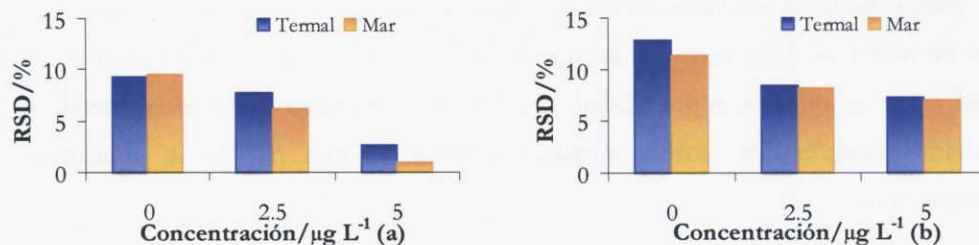


Figura 51. Desviación estándar relativa para la determinación de As(III) (a) y As inorgánico total (b) correspondiente a tubos recubiertos con La en el espectrofotómetro 4100

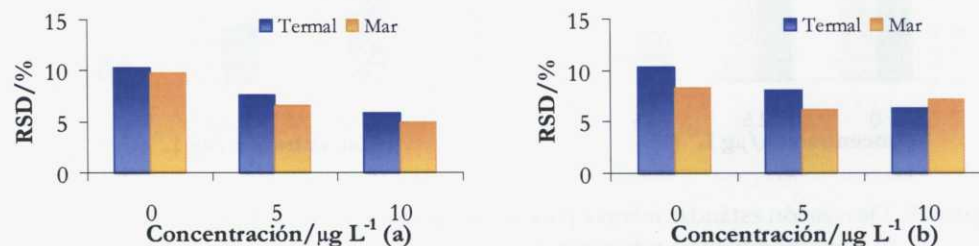


Figura 52. Desviación estándar relativa para la determinación de As(III) (a) y As inorgánico total (b) correspondiente a tubos recubiertos con U en el espectrofotómetro 4100

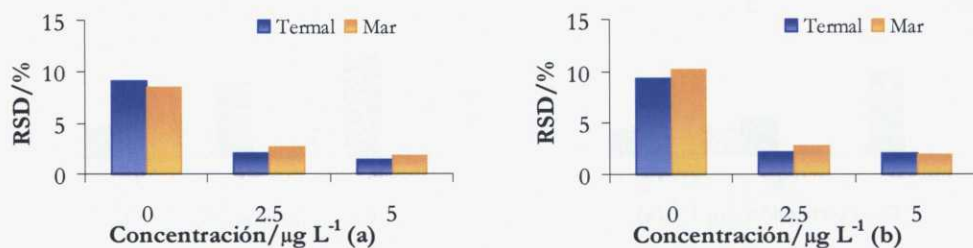


Figura 53. Desviación estándar relativa para la determinación de As(III) (a) y As inorgánico total (b) correspondiente a tubos recubiertos con Ir en el espectrofotómetro Analyst 800

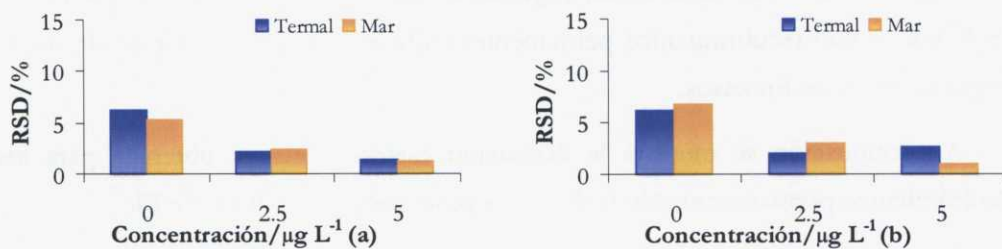


Figura 54. Desviación estándar relativa para la determinación de As(III) (a) y As inorgánico total (b) correspondiente a tubos recubiertos con Zr en el espectrofotómetro Analyst 800

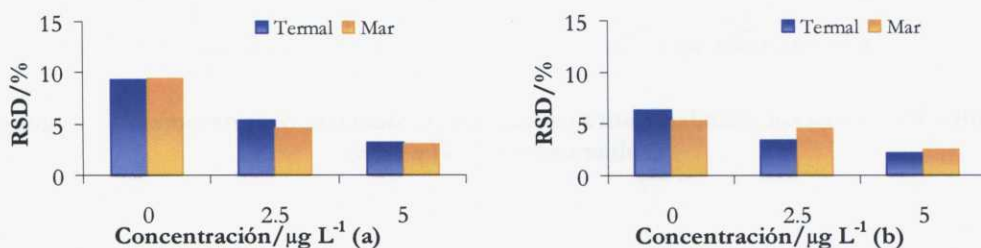


Figura 55. Desviación estándar relativa para la determinación de As(III) (a) y As inorgánico total (b) correspondiente a tubos recubiertos con La en el espectrofotómetro Analyst 800

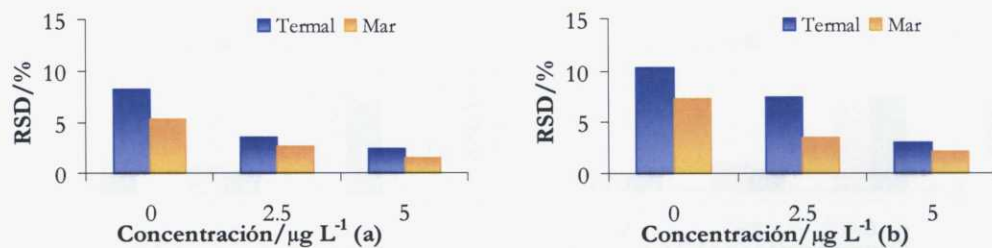


Figura 56. Desviación estándar relativa para la determinación de As(III) (a) y As inorgánico total (b) correspondiente a tubos recubiertos con U en el espectrofotómetro Analyst 800

Como puede observarse en las **Figuras 49-56**, la precisión obtenida para el Ir, Zr, U y La como recubrimientos permanentes en la generación del hidruro de As, es aceptable en todos los casos.

A continuación se muestra la desviación estándar relativa obtenida para los recubrimientos permanentes estudiados en la generación del hidruro de Bi.

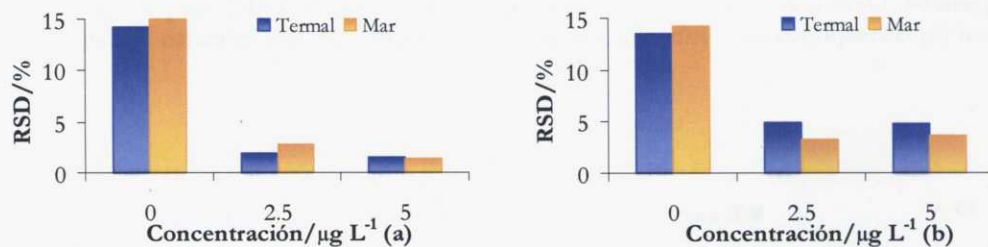


Figura 57. Desviación estándar relativa para la determinación de Bi correspondiente a tubos recubiertos con Zr (a) y U (b)

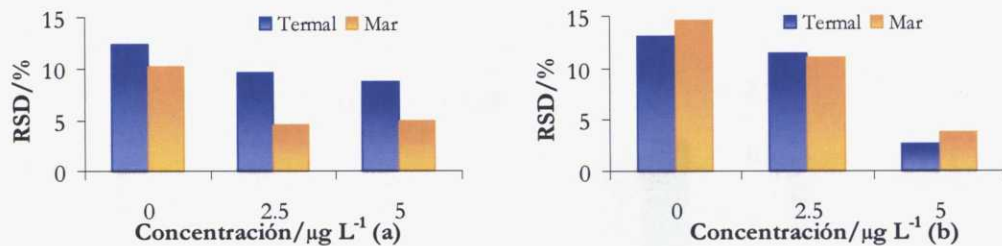


Figura 58. Desviación estándar relativa para la determinación de Bi correspondiente a tubos recubiertos con La (a) y Ta (b)

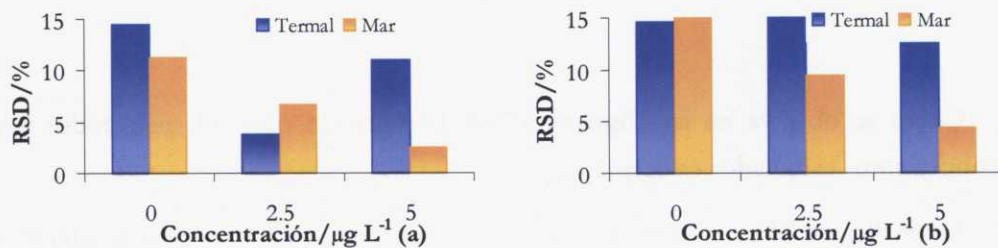


Figura 59. Desviación estándar relativa para la determinación de Bi correspondiente a tubos recubiertos con Nb (a) y CTa (b)

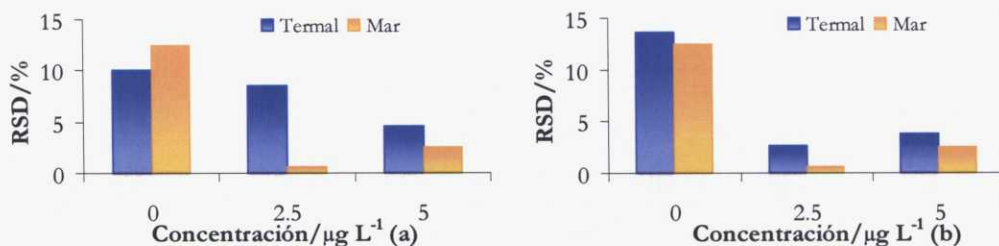


Figura 60. Desviación estándar relativa para la determinación de Bi correspondiente a tubos recubiertos con Cr₂O₃ (a) y BeO (b)

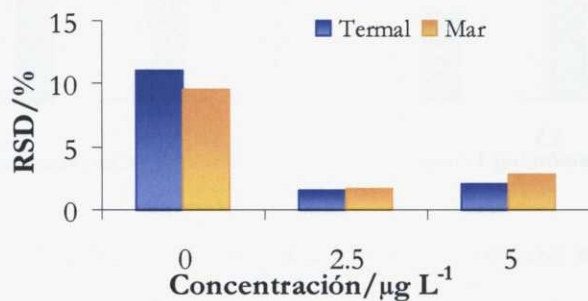


Figura 61. Desviación estándar relativa para la determinación de Bi correspondiente a tubos recubiertos con V

Como se observa en las **Figuras 57-61**, la precisión obtenida para todos los recubrimientos estudiados es aceptable.

En la **Figura 62** se muestra que la precisión obtenida para los tubos recubiertos con Zr, U y La en la determinación de Ge es similar y aceptable para todas las concentraciones de analito estudiadas.

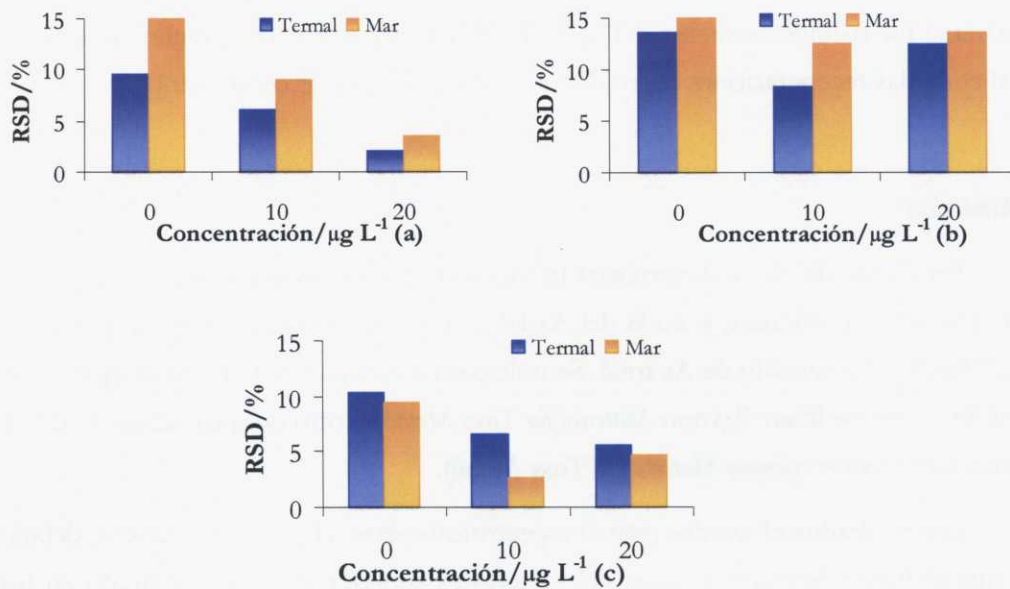


Figura 62. Desviación estándar relativa para la determinación de Ge correspondiente a tubos recubiertos con Zr (a), U (b) y La (c)

A continuación, se realiza un estudio de la exactitud de los recubrimientos permanentes utilizados en cada caso. Este estudio solo se realiza con los recubrimientos que proporcionaron la mejor sensibilidad y que resultaron ser para la generación del hidruro de As y Ge los recubrimientos de Ir y Zr y para la generación del hidruro de Bi los recubrimientos de Ir y U.

4.3.4.Exactitud

Se estudia la exactitud de los recubrimientos seleccionados para cada metal. Cada material fue medido once veces. En las **Tablas 48-51** se muestran dichos resultados, así como las recuperaciones obtenidas (valor obtenido/valor certificado).

Arsénico

En el caso del As se determinará la concentración de arsénico inorgánico total en las muestras certificadas, y no la del As(III), ya que en esos materiales se encuentra certificado el contenido de As total. Se utilizó un material de referencia de agua dulce (SLRS-4, *Reverie Water Reference Material for Trace Metals*) y otro de agua salada (CASS-3, *Nearshore Seawater reference Material for Trace Metals*).

Los resultados obtenidos para el espectrofotómetro 4100 son indicativos, debido a que el límite de cuantificación del método es superior al valor certificado en los distintos materiales de referencia.

Los resultados obtenidos se muestran a continuación:

Tabla 48. Análisis de materiales de referencia para los recubrimientos de Ir y Zr. Espectrofotómetro 4100 (n=11)

		Concentración As±SD (µg L ⁻¹)		
		Valor certificado	Valor obtenido	R (%)
Ir	SLRS-4	0.68±0.06	0.70±0.10*	103±14.7
	CASS-3	1.09±0.07	1.16±0.10*	106±9.1
Zr	SLRS-4	0.68±0.06	0.62±0.09*	91±13.2
	CASS-3	1.09±0.07	1.15±0.10*	105±9.1

*Valores indicativos, debido a que el LOQ es superior al valor certificado

Tabla 49. Análisis de materiales de referencia para los recubrimientos de Ir y Zr.
Espectrofotómetro Aanalyst 800 (n=11)

		Concentración As \pm SD ($\mu\text{g L}^{-1}$)		
		Valor certificado	Valor obtenido	R (%)
Ir	SLRS-4	0.68 \pm 0.06	0.71 \pm 0.08	104 \pm 11.7
	CASS-3	1.09 \pm 0.07	1.12 \pm 0.03	102 \pm 2.7
Zr	SLRS-4	0.68 \pm 0.06	0.68 \pm 0.03	100 \pm 4.4
	CASS-3	1.09 \pm 0.07	1.17 \pm 0.02	107 \pm 1.8

Bismuto

Los materiales acuosos estudiados para el As, no están certificados para Bi, así que para este metal se utilizaron el SRM 1643d, *Trace Elements in Water* y el TM-24, en los cuales se da un valor indicativo, además de un carbón (SRM 1632c, *Trace Elements in Coal Fly Ash*) y un suelo (GBW 07401). Para los materiales sólidos, se pesaron 0.5 g de los mismos y se los sometió a un proceso de extracción ácida con agua regia en microondas (capítulo 5).

Tabla 50. Análisis de materiales de referencia para los recubrimientos de Ir y U (n=11)

		Concentración B \pm SD		
		Valor certificado	Valor obtenido	R (%)
Ir	1643 d ^a	13*	11.7 \pm 0.32	90 \pm 2.4
	TM-24 ^a	2.5*	2.33 \pm 0.15	93 \pm 6.0
	GBW 07401 ^b	1.2 \pm 0.2	1.6 \pm 0.10	132 \pm 25
	1632c ^b	0.1*	0.08 \pm 0.01	80 \pm 10
U	1643 d ^a	13*	11.8 \pm 0.2	91 \pm 1.5
	TM-24 ^a	2.5*	2.9 \pm 0.1	116 \pm 4.0
	GBW 07401 ^b	1.2 \pm 0.2	1.0 \pm 0.01	83 \pm 0.8
	1632c ^b	0.1*	0.1 \pm 0.01	100 \pm 10

*Valor indicativo

^aConcentración en $\mu\text{g L}^{-1}$ ^bConcentración en $\mu\text{g g}^{-1}$ **Germanio**

No se encontró ningún material de referencia acuoso en el que se certifiquen o indiquen valores de Ge, así que se utilizó para validar el método un material de referencia de cenizas (SRM 1633a, *Trace Elements in Coal Fly Ash*).

Tabla 51. Análisis del material de referencia 1633a para los recubrimientos de Ir y Zr (n=11)

		Concentración Ge \pm SD ($\mu\text{g g}^{-1}$)		
		Valor indicativo	Valor obtenido	R (%)
Ir		6.0*	5.0 \pm 0.1	83 \pm 1.6
Zr		6.0*	6.1 \pm 0.1	101 \pm 1.6

4.3.5. Elección de los recubrimientos

A continuación, y teniendo en cuenta los estudios anteriores, se elige el recubrimiento permanente más adecuado para el atrapamiento de los hidruros de As, Bi y Ge

Debido a la mejor sensibilidad proporcionada por los tubos de grafito recubiertos con Zr (comparable a tubos de grafito recubiertos con Ir) y a que proporciona mejores perfiles de absorbancia, elegimos este recubrimiento como más adecuado con el objetivo de desarrollar los métodos analíticos para la determinación de As y de Ge.

Para la determinación de Bi, se eligió el recubrimiento de U, debido a que fue el que mejores perfiles de absorbancia y mejor sensibilidad proporciona para dicho metal.

5.BIBLIOGRAFÍA

- [1] X-P Yan, Z-M Ni, 'Vapour generation atomic absorption spectrometry', *Analytica Chimica Acta*, 291 (1994) 89-105.
- [2] E. Vereda, A. García, J.M. Cano, 'Flow injection on-line electrothermal atomic absorption spectrometry', *Talanta*, 55 (2001) 219-232.
- [3] J. Dedina, D.L. Tsalev, *Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*, Chichester, 1995.
- [4] D.L. Tsalev, 'Hyphenated vapour generation atomic absorption spectrometric techniques', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 14 (1999) 147-162.
- [5] S.J. Hill, S. Chenery, J.B. Dawson, E.H. Evans, A. Fisher, W.J. Price, C.M.M. Smith, K.L. Sutton, J.F. Tyson, 'Advances in atomic emission, absorption and fluorescence spectrometry and related techniques', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 15 (2000) 763-805.
- [6] E.H. Evans, J.B. Dawson, A. Fisher, S.J. Hill, W.J. Price, C.M.M. Smith, K.L. Sutton, J.F. Tyson, 'Atomic Spectrometry Update. Advances in atomic emission, absorption, and fluorescence spectrometry, and related techniques', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 16 (2001) 672-711.
- [7] T. Nakahara, 'Hydride generation', en: *Sample Introduction in Atomic Spectroscopy*, Joseph Sneddon (Eds.), Elsevier, 1990.
- [8] R.G. Godden, D.R. Thomerson, 'Generation of hydrides in atomic absorption spectroscopy', *The Analyst*, 105 (1980) 1137-1156.
- [9] E.N. Pollock, S.J. West, 'The generation and determination of covalent hydrides by atomic absorption', *Atomic Absorption Newsletter*, 12 (1973) 6-8.
- [10] T. Maruta, G. Sudoh, 'Arsine generation and determination of trace amounts of arsenic by atomic absorption spectrometry', *Analytica Chimica Acta*, 77 (1975) 37-42.
- [11] M. Burguera, J.L. Burguera, 'Flow injection-electrothermal atomic absorption spectrometry for arsenic speciation using the Fleitmann Reaction', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 8 (1993) 229-233.
- [12] B. Welz, M. Sperling, *Atomic Absorption Spectrometry*, Wiley-VCH, Weinheim, 1999.

- [13] G. Drasch, L.V. Meyer, G. Kauert, 'Application of the furnace AA method for the detection of As in biological samples by means of the hydride technique', *Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie*, 304 (1980) 141-142.
- [14] D.S. Lee, 'Determination of bismuth in environmental samples by flameless atomic absorption spectrometry with hydride generation', *Analytical Chemistry*, 54 (1982) 1682-1683.
- [15] R.E. Sturgeon, S.N. Willie, S.S. Berman, 'Hydride generation-graphite furnace atomic absorption spectrometry: new prospects', *Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie*, 323 (1986) 788-792.
- [16] R.E. Sturgeon, S.N. Willie, G.I. Sproule, P.T. Robinson, S.S. Berman, 'Sequestration of volatile element hydrides by platinum group elements for graphite furnace atomic absorption', *Spectrochimica Acta*, 44B (1989) 667-682.
- [17] D.L. Tsalev, A. D'Ulivo, L. Lampugnani, M. Di Marco, R. Zamboni, 'Thermally stabilized iridium on an integrated carbide-coated platform as a permanent modifier for hydride-forming elements electrothermal atomic absorption spectrometry. Part 1. Optimization studies.', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 10 (1995) 1003-1008.
- [18] E.H. Evans, J.B. Dawson, A. Fisher, W.J. Price, C.M.M. Smith, J.F. Tyson, 'Advances in atomic emission, absorption and fluorescence spectrometry and related techniques', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 17 (2002) 622-651.
- [19] R.R. Stanforth, D.E. Iverson, 'An evaluation of column chromatography and flameless atomic absorption spectrophotometry for arsenic speciation as applied to aquatic systems', *Environmental, Science and Technology*, 12 (1979) 1491-1494.
- [20] M. Styblo, M. Delnomdedieu, M.F. Hughes, D.J. Thomas, 'Identification of methylated metabolites of inorganic arsenic by thin-layer chromatography', *Journal of Chromatography B*, 668 (1995) 21-29.
- [21] Y.K. Chen, W.G. Qi, J.S. Cao, M.S. Chang, 'Determination of arsenic (V) and arsenic (III) species in environmental samples by coprecipitation with zirconium hydroxide and pre-atomization atomic absorption spectrometry', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 8 (1993) 381-397.
- [22] E.A. Woolson, N. Aharonson, 'Separation and detection of arsenical pesticide residues and some of their metabolites by high pressure liquid chromatography-graphite furnace atomic absorption spectrometry', *Journal of AOAC International*, 63 (1980) 523-528.

- [23] F. Puttemans, D.L. Massart, 'Solvent extraction procedures for the differential determination of As(V) and As(III) species by electrothermal atomic absorption spectrometry', *Analytica Chimica Acta*, 141 (1982) 225-232.
- [24] D. Chakraborti, F. Adams, K.J. Irgolic, 'Compound-specific determination of arsenite at sub-nanogram concentrations in fresh water and sea water', *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 323 (1986) 340-342.
- [25] E. Russeva, I. Havezov, A. Detcheva, 'Arsenic speciation in wast waters by extraction chromatography followed by atomic absorption spectrometry', *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 347 (1993) 320-323.
- [26] G.E. Pacey, J.A. Ford, 'Arsenic speciation by ion exchange separation and graphite furnace atomic absorption spectrophotometry', *Talanta*, 28 (1981) 935-938.
- [27] A.A. Grabinski, 'Determination of arsenic (III), arsenic (V), monomethylarsonate and dimethylarsinate by ion-exchange chromatography with flameless atomic absorption spectrometric detection', *Analytical Chemistry*, 53 (1981) 966-968.
- [28] L. Zhang, Z. Ni, X. Shan, 'In situ concentration of matallic hydrides in a graphite furnace coated with palladium', *Spectrochimica Acta*, 44B (1989) 339-346.
- [29] P.S. Doidge, B.T. Sturman, T.M. Rettberg, 'Hydride generation atomic absorption spectrometry with in situ pre-concentration in a graphite furnace in the presence of palladium', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 4 (1989) 251-255.
- [30] B.V. L'vov, 'Mechanism of action of a palladium modifier', *Spectrochimica Acta*, 55B (2000) 1659-1668.
- [31] I.L. Shuttler, M. Feuerstein, G. Schlemmer, 'Long-term stability of a mixed palladium-iridium trapping reagent for in situ hydride trapping within a graphite electrothermal atomizer', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 7 (1992) 1299-1301.
- [32] G. Topping, J.M. Pirie, 'Determination of inorganic mercury in natural waters', *Analytica Chimica Acta*, 62 (1973) 200-203.
- [33] B. Welz, M. Melcher, H.W. Sinemus, D. Maier, 'Picotrace determination of mercury using the amalgamation technique', *Atomic Spectroscopy*, 5 (1984) 37-42.
- [34] W.H. Schroeder, 'Sampling and analysis of mercury and its compounds in the atmosphere', *Enviromental, Science and Technology*, 16 (1982) 394-400.

- [35] D.L. Tsalev, *Atomic Absorption Spectrometry in Occupational and Environmental Health Practice: Determination of Individual Elements*, CRC Press, Boca Ratón, Florida, 1984.
- [36] R.K. Skogerboe, D.A. Pavlica, 'Injection of samples into flames and plasmas by production of volatile chlorides', *Analytical Chemistry*, 47 (1975) 568-570.
- [37] S. Tesfalidet, K. Irgum, 'Volatilization of arsenic as trichloride for sample introduction in atomic spectroscopy', *Analytical Chemistry*, 60 (1988) 2031-2035.
- [38] K. Motojima, K. Tatenuma, Z. Yoshida, H. Takeishi, E. Akatsu, 'Determination of traces of ruthenium by addition of cerium (IV) and atomic absorption spectrometry', *Analytica Chimica Acta*, 183 (1986) 217-223.
- [39] H. Tao, A. Miyazaki, K. Bansho, 'Determination of osmium by inductively coupled plasma emission spectrometry with an oxide generation/condensation system', *Analytical Chemistry*, 60 (1988) 1762-1765.
- [40] P.N. Vijan, 'Feasibility of determining ultratrace amounts of nickel by carbonyl generation and atomic absorption spectrometry', *Atomic Spectroscopy*, 1 (1980) 143-144.
- [41] J.R. Castillo, E. García, J. Delfa, J.M. Mir, C. Bendicho, 'Determination of chromium, cobalt and iron by flame-atomic absorption spectrophotometry using volatilization of metal trifluoroacetyl acetatos', *Microchemical Journal*, 42 (1990) 103-109.
- [42] Y. An, S.N. Willie, R.E. Sturgeon, 'Flow injection-hydride generation determination of arsenic with *in situ* concentration in a graphite furnace', *Spectrochimica Acta*, 47B (1992) 1403-1410.
- [43] M. Walcerz, S. Garbós, E. Bulska, A. Hulanicki, 'Continuous flow hydride generation for the preconcentration and determination of arsenic and antimony by GFAAS', *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 350 (1994) 662-666.
- [44] S. Garbós, M. Walcerz, E. Bulska, A. Hulanicki, 'Simultaneous determination of Se and As by hydride generation atomic absorption spectrometry with analyte concentration in a graphite coated with zirconium', *Spectrochimica Acta*, 50B (1995) 1669-1677.
- [45] H.O. Haug, Y.-p. Liao, 'Investigation of the automated determination of As, Sb and Bi by flow-injection hydride generation using in-situ trapping on stable coatings in graphite furnace atomic absorption spectrometry', *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 356 (1996) 435-444.

- [46] J. Murphy, G. Schlemmer, I.L. Shuttler, P. Jones, S.J. Hill, 'Simultaneous multi-element determination of hydride-forming elements by "in-atomiser trapping" electrothermal atomic absorption spectrometry on an iridium-coated graphite tube', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 14 (1999) 1593-1600.
- [47] L. Zhang, Z. Ni, X. Shan, 'In situ concentration of metallic hydride in a graphite furnace coated with palladium-determination of bismuth, germanium and tellurium', *Spectrochimica Acta*, 44B (1989) 751-758.
- [48] G. Tao, Z. Fang, 'Determination of trace and ultra-trace amounts of germanium in environmental samples by preconcentration in a graphite furnace using a flow injection hydride generation technique', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 8 (1993) 577-584.
- [49] B. Hilligsoe, E.H. Hansen, 'Application of factorial designs and simplex optimisation in the development of flow injection-hydride generation-graphite furnace atomic absorption spectrometry (FI-HG-GFAAS) procedures as demonstrated for the determination of trace levels of germanium', *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 358 (1997) 775-780.
- [50] H.O. Haug, J. Chonghua, 'Systematic studies on the determination of germanium by electrothermal atomic absorption spectrometry including liquid sample introduction and hydride techniques', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 5 (1990) 215-223.
- [51] D. Zhang, Z. Ni, H. Sun, 'Direct determination of parts-per-billion levels of germanium in botanical samples and coal fly ash by graphite furnace atomic absorption spectrometry', *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 358 (1997) 641-645.
- [52] H.O. Haug, L. Yiping, 'Investigation of automated determination of germanium by hydride generation using in situ trapping on stable coatings in electrothermal atomic absorption spectrometry', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 10 (1995) 1069-1076.
- [53] R.G. Brereton, 'Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry', *The Analyst*, 125 (2000) 2125-2154.
- [54] K. Jones, 'Optimization of experimental data', *International Laboratory*, (1986) 32-45.
- [55] S.A. Pergantis, W.R. Cullen, A.P. Wade, 'Simplex optimization of conditions for the determination of arsenic in environmental samples by using electrothermal atomic absorption spectrometry', *Talanta*, 41 (1994) 205-209.
- [56] M. Legret, L. Divet, 'Utilisation des plans d'expériences factoriels pour l'optimisation du dosage du plomb par atomisation électrothermique', *Analusis*, 16 (1988) 97-106.

- [57] G. Lespes, F. Seby, P.M. Sarradin, M. Potin-Gautier, 'Application of experimental designs in optimization of a hydride generation quartz furnace atomic absorption spectrometry method for selenium determination', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 9 (1994) 1433-1439.
- [58] C. Gleyzes, F. Seby, G. Lespes, M. Potin-Gautier, 'Validation of the inorganic selenium speciation by the HG-QFAAS method using experimental designs', *Analisis*, 25 (1997) 273-278.
- [59] M.J. Vazquez, A.M. Carro, R.A. Lorenzo, R. Cela, 'Optimization of methylmercury microwave-assisted extraction from aquatic sediments', *Analytical Chemistry*, 69 (1997) 221-225.
- [60] P. Bermejo-Barrera, A. Moreda-Piñeiro, A. Bermejo-Barrera, 'Factorial designs for Cd, Cr, Hg, Pb and Se ultrasound-assisted acid leaching from human hair followed by atomic absorption spectrometric determination', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 15 (2000) 121-130.
- [61] I. Lavilla, B. Pérez-Cid, C. Bendicho, 'Optimization of digestion methods for sewage sludge using the Plackett-Burman saturated design', *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 361 (1998) 164-167.
- [62] S.N. Deming, S.L. Morgan, *Experimental Design. A Chemometric Approach*, Elsevier, Amsterdam, 1987.
- [63] D.C. Montgomery, *Diseño y análisis de experimentos*, Editorial Limusa wiley, México D.F., 1991.
- [64] E. Morgan, *Chemometrics: experimental design*, John Wiley and Sons, Chichester, UK, 1991.
- [65] R.L. Plackett, J.B. Burman, 'The design of optimum multifactorial experiments', *Biometrika*, 33 (1946) 305-325.
- [66] J.C. Miller, J.N. Miller, *Estadística para Química Analítica*, Addison-Wesley, Iberoamericana USA, 1993.
- [67] D.L. Tsalev, A. D'Ulivo, L. Lampugnani, M. Di Marco, R. Zamboni, 'Thermally stabilized iridium on an integrated carbide-coated platform as a permanent modifier for hydride-forming elements electrothermal atomic absorption spectrometry. Part 2. Hydride generation and collection, and behaviour of some organoelements species', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 11 (1996) 979-988.

[68] Z. Ni, D. Zhang, 'Influence of sample deposition and coating with Zr and Pd on the atomization kinetics of germanium in graphite furnace atomic absorption spectrometry', *Spectrochimica Acta Part B*, 50 (1995) 1779-1786.

[69] P. Bermejo-Barrera, J. Moreda-Piñeiro, A. Moreda-Piñeiro, A. Bermejo-Barrera, 'Selective medium reaction for the As(III), As(V), dimethylarsonic acid and monomethylarsonic determination in waters by hydride generation on-line electrothermal atomic absorption spectrometry with in situ preconcentration on Zr-coated graphite tubes', *Analytica Chimica Acta*, 374 (1998) 231-240.

Capítulo 4

**Determinación de As, Bi, Sb, Se y Te mediante
HG-AFS**

1. INTRODUCCIÓN	167
1.1. Métodos de determinación de As, Bi, Sb, Se y Te mediante HG-AFS	168
2. MATERIAL, INSTRUMENTAL Y REACTIVOS.....	174
2.1. Material e instrumental.....	174
2.2. Reactivos.....	174
3. OPTIMIZACIÓN DE MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE As INORGÁNICO TOTAL, Bi, Sb(III), Se(IV) Y Te.....	176
3.1. Identificación de las variables significativas	178
3.2. Optimización de las variables significativas	189
3.3. Características analíticas de los métodos.....	207
3.3.1. Rectas de calibrado y adición	207
3.3.2. Límites de detección y cuantificación	213
3.3.3. Precisión.....	213
3.3.4. Exactitud	215
4. OPTIMIZACIÓN DE UN MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE As(III)	219
4.1. Identificación y optimización de las variables significativas.....	220
4.2. Características analíticas del método	229
5. OPTIMIZACIÓN DE MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE As Y Sb INORGÁNICO TOTAL UTILIZANDO AGENTES REDUCTORES.....	233
5.1. Determinación de As inorgánico total	233
5.1.1. Identificación y optimización de las variables significativas	236
5.1.2. Características analíticas del método.....	244
5.2. Determinación de Sb inorgánico total.....	247
5.2.1. Identificación y optimización de las variables significativas	248
5.2.2. Características analíticas de los métodos.....	254
6. BIBLIOGRAFÍA	258

1. INTRODUCCIÓN

En este capítulo, se desarrollan métodos de determinación de elementos formadores de vapor (As, Bi, Sb, Se y Te) en distintas muestras de aguas naturales, materias primas y productos de combustión de centrales térmicas y particulado atmosférico mediante espectroscopía de fluorescencia atómica (AFS, *Atomic Fluorescence Spectroscopy*).

La aplicación analítica de la fluorescencia atómica se remonta a 1962, cuando el físico Alkemade presentó un trabajo sobre los mecanismos de excitación y desactivación de los átomos en una llama, describiendo el proceso de fluorescencia atómica e indicando por primera vez sus posibilidades para el análisis químico. En 1964, Winefordner propuso la espectroscopía de fluorescencia atómica como un nuevo método analítico para el análisis de elementos como Hg, Zn, Cd y Tl [1].

Posteriormente esta técnica fue estudiada y perfeccionada, sobre todo durante la última década, desarrollando especialmente las distintas fuentes de excitación, describiendo las ventajas y desventajas de la fluorescencia dispersiva y no dispersiva (es decir, con monocromador o sin él) y la sustitución de las llamas como fuentes de atomización por cámaras y cubetas de grafito, plasmas, etc.

Aunque la espectroscopía de fluorescencia atómica combina para algunos elementos las ventajas de un gran rango lineal típico de la emisión atómica y la alta selectividad de la absorción atómica, ésta técnica no es ampliamente utilizada, debido sobre todo a las interferencias de radiación dispersa (*scattering*), las cuales son difíciles de controlar aún con los métodos de corrección desarrollados en la absorción atómica. Para otros elementos, sin embargo, no presenta ventajas respecto a la espectroscopía de absorción atómica, la cual se ha desarrollado mucho más en la última década.

En la mayoría de los casos, las medidas en la espectroscopía de fluorescencia atómica se llevan a cabo empleando una llama como atomizador e introducción de la muestra en continuo.

La eficiencia de la atomización, así como la emisión de fondo y las interferencias producidas son factores que deben ser considerados al elegir el tipo de llama [2].

La llama de difusión Ar-H₂ es muy utilizada por sus bajas interferencias debidas a la desactivación de la fluorescencia por colisiones (*quenching*), pero presenta la desventaja de su baja temperatura lo que impide prevenir las interferencias químicas. Por ello son más empleadas las llamas de Ar-aire-acetileno u óxido nitroso-acetileno.

La mayor aplicación de este modo de detección está en la determinación de elementos formadores de vapor como As, Bi, Hg, Sb, Se y Te introduciendo el hidruro generado en la llama correspondiente, donde es atomizado. Una vez que el analito se encuentra en forma atómica, absorbe la radiación procedente de la fuente para luego emitir otra radiación de mayor longitud de onda. El Hg, también ha sido determinado por esta técnica previa generación del vapor monoatómico [3].

Recientemente, la AFS ha sido acoplada a otras técnicas analíticas para especiación de diversos metales. Así, la cromatografía de gases acoplada a espectroscopía de fluorescencia atómica (GC-AFS, *Gas Chromatography Atomic Fluorescence Spectroscopy*), se utilizó para determinar compuestos orgánicos de Hg, al igual que, la cromatografía líquida acoplada a fluorescencia atómica (LC-AFS, *Liquid Chromatography Atomic Fluorescence Spectroscopy*) la cual se ha aplicado ampliamente en los últimos años a la especiación de metales como As, Hg y Se [4,5].

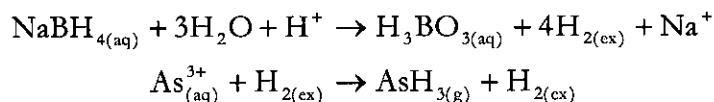
1.1. MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE As, Bi, Sb, Se Y Te MEDIANTE HG-AFS

A continuación se resumen los métodos de determinación de As, Bi, Sb, Se y Te mediante HG-AFS propuestos en la bibliografía.

En general, los métodos se basan en la utilización de un agente reductor (NaBH_4 o SnCl_2) que en medios de reacción específicos (habitualmente medio ácido) consiguen la generación del vapor.

Arsénico

El mecanismo de formación del hidruro de arsénico a partir de As(III) en presencia de NaBH_4 y medio ácido se muestra a continuación:



El hidruro así generado es conducido por una corriente de gas hasta la llama, donde será atomizado.

Las primeras referencias que se conocen de la aplicación al análisis químico de la fluorescencia atómica se remontan a 1975, cuando Thompson determinó As, Sb y Te previa generación de los correspondientes hidruros [6]. Más tarde, Guo y col. determinaron As, Bi, Sb, Hg, Se y Te utilizando la técnica de inyección en flujo acoplado a fluorescencia atómica [7].

Existen muchos trabajos en la bibliografía sobre la aplicación de la espectroscopía de fluorescencia atómica para determinar As en distintas muestras de interés. Así, Martínez y col. y Segura y col. determinaron As en cerveza y vino [8,9]. Rahman y col. determinaron As, Hg, Se, Bi y Sb en pelo humano y Vilanó y col. lo hicieron en pescado [10,11].

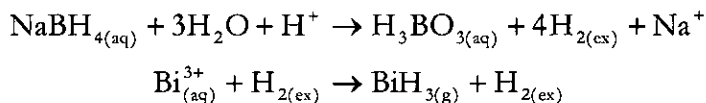
En muestras medioambientales existen distintas referencias bibliográficas en las que se utiliza esta técnica. Moreda-Piñeiro y col. determinan As en agua de mar, mientras que Featherstone y col. determinan As(III), As(V), MMAA y DMAA en la misma matriz [12,13].

Esta técnica ha sido aplicada en estudios de contaminación en grandes áreas, como la contaminación por arsénico en aguas de bebida y subterráneas producida en Vietnam [14].

Recientemente esta técnica ha sido acoplada a otras técnicas para especiación de As. Suñer y col. aplican la cromatografía líquida acoplada a la AFS para especiar arsénico en muestras de pescado y Bohari y col. aplican la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, *High Performance Liquid Chromatography*) para especiar As en aguas naturales [15,16]. La inyección en flujo (FIA, *Flow Injection Analysis*) también ha sido utilizada para introducir la muestra y posterior determinación de As por AFS [17]. Gómez-Ariza y col. comparan la AFS con la técnica del plasma acoplado por inducción con espectrometría de masas como detector (ICP-MS, *Inductively Coupled Plasma with Mass Spectrometer Detection*) para la especiación de As obteniendo resultados similares en ambas técnicas [18], al igual que Van Elteren y col. comparan la técnica de HG-AFS con ICP-MS para determinar As(III) en agua, no encontrando diferencias significativas [19].

Bismuto

El mecanismo de formación del hidruro de bismuto a partir de Bi(III) en presencia de NaBH_4 y medio ácido se muestra a continuación:

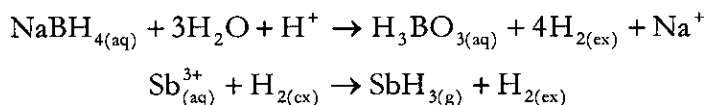


La bibliografía referente a la determinación de Bi mediante HG-AFS es escasa. Se conocen unos primeros estudios hechos por Chen y col. y Guo y col., los cuales determinaron Bi con generación de hidruros y detección por fluorescencia no dispersiva (NDAFS, *Non Dispersive Atomic Fluorescence Spectroscopy*) [7,20].

Recientemente, Rahman y col. determinaron Bi en muestras de pelo humano mediante la generación del hidruro y detección por fluorescencia atómica [10].

Antimonio

El mecanismo de formación del hidruro de antimonio a partir de Sb(III) en presencia de NaBH₄ y medio ácido se muestra a continuación:



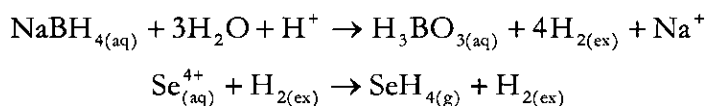
La generación del hidruro de Sb y su posterior determinación por AFS ha sido referenciada por Thompson en 1975 obteniendo concentraciones del orden de mg L⁻¹ de dicho metal en muestras de piensos para animales [6].

Posteriormente se ha aplicado dicha técnica a la determinación de Sb en aguas de bebida, pelo humano o suelos y vegetales mejorando notablemente la sensibilidad [10,21,22].

Sayago y col. consiguen la especiación de Sb (Sb(III) y Sb(V)) en agua utilizando como técnica separativa la HPLC y acoplándola a la AFS, mientras que, Craig y col. utilizaron esta misma técnica para determinar Sb(V) y especies orgánicas de Sb [23,24].

Selenio

El mecanismo de formación del hidruro de selenio a partir de Se(IV) en presencia de NaBH₄ y medio ácido se muestra a continuación:



La determinación de Se por AFS ha sido aplicada a distintas muestras medioambientales. Así, He y col. determinaron Se(IV), Se(VI) y Se inorgánico total en

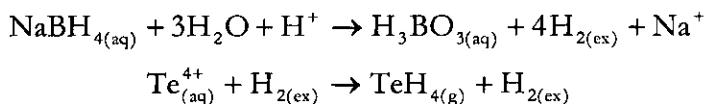
agua de mar introduciendo la muestra de forma continua y en inyección en flujo [25,26]. La introducción de la muestra por inyección en flujo también ha sido utilizada por Moreno y col. para especiar Se, en aguas residuales y fangos [27]. Guo y col. determinaron Se en aguas minerales mediante la inyección en continuo de la muestra y su posterior detección por AFS [28].

En muestras biológicas sólo se conoce la utilización de dicha técnica para la determinación de Se en orina [29].

Recientemente se han realizado estudios del efecto de distintos agentes reductores como KI o tiourea para la determinación de Se mediante AFS [30,31].

Teluro

El mecanismo de formación del hidruro de teluro a partir de Te (IV) en presencia de NaBH_4 y medio ácido se muestra a continuación:



La bibliografía referente a la determinación de Te mediante AFS es muy escasa. Solamente se conocen los estudios realizados por D'Ulivo y col. y Marcucci y col. sobre el efecto del KI y la tiourea en presencia o ausencia de agentes interferentes [30,31].

En este capítulo, se desarrollan métodos para la determinación de As inorgánico total, Bi, Sb(III), Se(IV) y Te mediante HG-AFS. Los métodos serán optimizados mediante diseños factoriales de Plackett-Burman y diseños composicionales. A continuación, se desarrolla un método para la determinación de As(III) y, finalmente, estos métodos se comparan con dos métodos de determinación de As inorgánico total y Sb inorgánico total utilizando agentes reductores.

Los métodos desarrollados serán aplicados a muestras de interés ambiental como agua de mar y termal, extractos ácidos de carbones, cenizas, escorias y coques, así como muestras de particulado atmosférico interior (capítulo 5).

2. MATERIAL, INSTRUMENTAL Y REACTIVOS

2.1. MATERIAL E INSTRUMENTAL

- Espectrofotómetro de fluorescencia atómica Millenium Excalibur PSA 10.055 (PS Analytical, Sevenoaks, Kent, UK) con llama de difusión de hidrógeno y filtros específicos.
- Sistema de inyección de vapor en continuo PSA 10.004 (PS Analytical) equipado con un separador gas-líquido tipo B y un sistema de secado Perma Pure (PS Analytical).
- Lámparas de cátodo hueco de doble descarga (BDHCL) de As, Bi, Sb, Se y Te (Superlamp, Photon, Victoria, Australia).
- Sistema de depuración de agua Milli-Q, (Millipore) de $18 \Omega \text{ cm}^{-1}$ de resistencia específica. Bedford, USA.

2.2. REACTIVOS

- Disolución estándar de cloruro de arsénico (III) de 1000 mg L^{-1} para absorción atómica, suministrada por Panreac, Barcelona, España.
- Disolución de arsénico (V) de 1000 mg L^{-1} para absorción atómica, preparada a partir de $\text{NaHAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 98.5% suministrada por Merck, Darmstad, Alemania.
- Disolución de bismuto de 1000 mg L^{-1} para absorción atómica, suministrada por Panreac.
- Disolución de antimonio (III) de 1000 mg L^{-1} para absorción atómica, suministrada por Panreac.

- Disolución de antimonio (V) de 1000 mg L⁻¹ para absorción atómica, preparada a partir de KSb(OH)₆ (Aldrich, Milwaukee, USA)
- Disolución de selenio (IV) de 1000 mg L⁻¹ para absorción atómica, suministrada por Panreac.
- Disolución de telurio (IV) de 10000 mg L⁻¹ para para ICP, suministrada por Aldrich.
- Borohidruro sódico para síntesis (Merck) disuelto en 0.5% m/v de hidróxido sódico (Panreac) preparado diariamente.
- Ácido clorhídrico comercial del 37% para análisis (Panreac).
- Filtros de papel, Whatman International. Ltd, Maidstone (Reino Unido).
- Materiales de referencia acuosos: NRC-CNRC CASS-3 (*Nearshore Seawater Reference Material for Trace Metals*) del National Research Council of Canadá y CRM TM-24 del National Water Research Institute.
- Materiales de referencia de carbón y derivados: NIST SRM 1632c (*Trace Elements in Coal (Bituminous)*), del National Institute of Standards and Technology, USA y NBS SRM 1633a (*Trace Elements in Coal Fly Ash*), del National Bureau of Standards, USA.
- Material de referencia de suelo CRM GBW 07401 del National Researchcouncil of Reference Materials, China.

3. OPTIMIZACIÓN DE MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE As INORGÁNICO TOTAL, Bi, Sb(III), Se(IV) Y Te

A continuación se desarrollan métodos analíticos para la determinación de As inorgánico total, Bi, Sb(III), Se(IV) y Te en distintas muestras medioambientales mediante HG-AFS, generando el hidruro en modo continuo.

Se utilizarán para ello los diseños de experiencias ya explicados en el capítulo anterior [32]. Para la determinación de las variables significativas se utilizarán los diseños de experiencias de Plackett-Burman, mientras que la optimización de variables significativas se llevará a cabo mediante diseños composicionales [33,34]. En nuestro estudio, la matriz nos la proporciona el paquete estadístico Statgraphics Plus 4.0.

Dichos estudios se llevarán a cabo en un espectrofotómetro de fluorescencia atómica Millenium Excalibur PSA 10.055 (PS Analytical) con llama de difusión de hidrógeno (**Figura 1**).



Figura 1. Espectrofotómetro de fluorescencia atómica Millenium Excalibur PSA 10.055

En la **Figura 2**, se muestra el sistema de generación de vapor en continuo, en donde la muestra acidificada, es bombeada junto con el ácido clorhídrico, siendo posteriormente mezclada con el reductor (NaBH_4). El vapor así generado, es arrastrado por una corriente de Ar hasta el sistema de secado Perma Pure, alcanzando a continuación la llama de difusión de hidrógeno donde será atomizado.

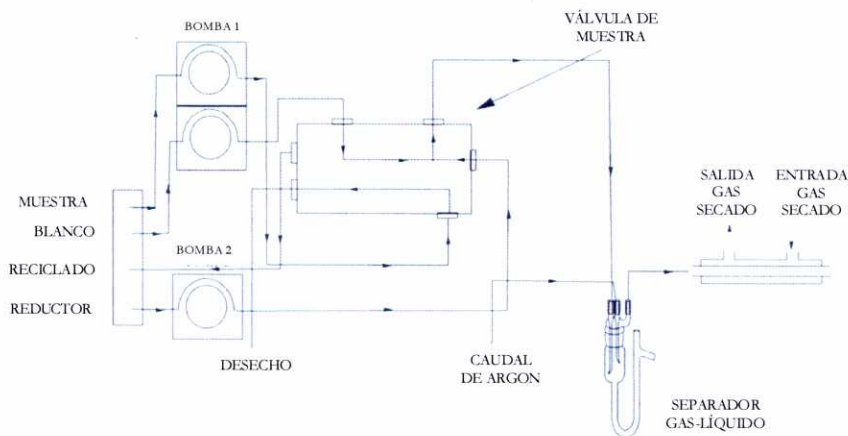


Figura 2. Esquema del sistema de inyección de vapor en continuo

En la **Tabla 1** se muestran las condiciones instrumentales utilizadas para cada analito. Estos estudios se realizan con $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III), $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de Bi(III), $4 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(III), 200 ng L^{-1} de Se(IV) y $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de Te(IV). Este sistema nos permite trabajar con distintas ganancias del detector, es decir, elegir cuanto queremos amplificar la señal. Las posibles ganancias que ofrece son 1, 10, 100 y 1000.

Tabla 1. Condiciones instrumentales para la determinación de As, Bi, Sb, Se y Te

Condiciones instrumentales	As	Bi	Sb	Se	Te
Ganancia	10	100	100	100	100
Intensidad de corriente/mA	27.5/35.0	12.0/10.0	17.5/15.0	20.0/25.0	15.0/17.5
Longitud de onda/nm	193.7	223.1	217.6	196.0	214.3

Como se observa en la **Tabla 1**, no se utilizan ganancias superiores a 100 debido a que los blancos de reactivos obtenidos con ganancias superiores son demasiado altos y dificultan la medida. Las lámparas proporcionan dos intensidades de trabajo diferentes una primaria y otra secundaria, utilizándose en este caso la intensidad secundaria.

3.1. IDENTIFICACIÓN DE LAS VARIABLES SIGNIFICATIVAS

Como se ha mencionado en el apartado anterior, para identificar las variables críticas en la generación del hidruro se usaron los diseños de experiencias de Plackett-Burman. En este trabajo se ha optado por un diseño de ocho variables con tres grados de libertad, con lo que al ser a dos niveles resultan doce experiencias en todos los casos.

No se trabajará con máxima ganancia (1000) debido a que en esas condiciones se observa saturación en el detector al realizar las medidas del blanco de reactivos en las experiencias del diseño que implican mayor concentración de HCl y NaBH₄.

A la hora de plantear el diseño de experiencias es necesario elegir las variables a estudiar teniendo en cuenta su posible influencia sobre el resultado final del análisis. En este sentido el caudal de ácido clorhídrico, no se podrá variar, ya que es bombeado por la misma bomba que impulsa la muestra, y su modificación implicaría alterar el caudal de muestra, con lo que el diseño no sería fiable. Dichos caudales vienen dados por las condiciones instrumentales de la bomba peristáltica utilizada y tendrán un valor fijo que será de 10 mL min⁻¹.

Las variables a tener en cuenta en la generación del hidruro serán las concentraciones de ácido clorhídrico y borohidruro sódico y el caudal de borohidruro sódico. También se tendrán en cuenta los tres tiempos en los que divide el proceso de determinación que son:

- Tiempo de demora: es el tiempo requerido para un llenado completo de todas las conducciones.
- Tiempo de análisis: el tiempo requerido para realizar el análisis.
- Tiempo de memoria: el tiempo necesario para que la señal de la muestra decaiga hasta el valor de la línea base.

Según esto tendremos seis variables a optimizar, con lo cual necesitaremos incluir dos variables fantasma para poder realizar el diseño de ocho variables.

La **Tabla 2** recoge las variables que se han considerado en el estudio, así como los dos niveles elegidos, seleccionados a partir de posibles limitaciones instrumentales y datos bibliográficos consultados. Las limitaciones instrumentales encontradas son debidas, por una lado a que altas concentraciones de HCl y/o NaBH₄ implican la liberación de una gran cantidad de H₂ que alimenta la llama de difusión, lo que se traduce en una llama inestable, que hace poco reproducible las medidas. Por otro lado se requiere una concentración mínima de HCl y/o NaBH₄ para que se mantenga encendida la llama de difusión. Los tiempos de demora y memoria, también son limitantes, debido a que es necesario un tiempo mínimo de demora para que todas las conducciones estén completamente llenas y llegue la muestra al separador antes del análisis, y un tiempo mínimo de memoria para poder alcanzar de nuevo el valor de la línea base. Teniendo en cuenta estas limitaciones, los valores para las variables seleccionadas son:

Tabla 2. Variables seleccionadas para el diseño experimental de la determinación de As, Bi, Sb, Se y Te

Código	Variable	Bajo(-)	Alto(+)
A	Concentración HCl/M	3	4.8
B	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	0.7	1
C	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	5	10
D	Tiempo demora/s	10	20
E	Tiempo análisis/s	20	50
F	Tiempo memoria/s	40	70
G	Variable fantasma	-	+
H	Variable fantasma	-	+

Las variables G y H de la **Tabla 2** son las llamadas variables fantasma, que sin tener influencia en los experimentos son necesarias para poder realizar en este caso un diseño de Plackett-Burman con 8 variables.

La matriz resultante de los diseños experimentales planteados, correspondiente a un diseño Plackett-Burman $2^8 \times 3/64$ implicando 12 experiencias y con 3 grados de libertad, se muestra en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Matriz de diseño experimental resultante de las condiciones seleccionadas para la determinación de As, Bi, Sb(III), Se(IV) y Te

Experiencia	Variables							
	A	B	C	D	E	F	G	H
1	+	-	+	-	-	-	+	+
2	+	+	-	+	-	-	-	+
3	-	+	+	-	+	-	-	-
4	+	-	+	+	-	+	-	-
5	+	+	-	+	+	-	+	-
6	+	+	+	-	+	+	-	+
7	-	+	+	+	-	+	+	-
8	-	-	+	+	+	-	+	+
9	-	-	-	+	+	+	-	+
10	+	-	-	-	+	+	+	-
11	-	+	-	-	-	+	+	+
12	-	-	-	-	-	-	-	-

A continuación, se llevan a cabo todas las experiencias del diseño de acuerdo a la matriz correspondiente y se obtienen los resultados que se recogen en la **Tabla 4**.

Una vez obtenida la respuesta para cada caso (intensidad de emisión de fluorescencia), se aplica el diseño Plackett-Burman elegido y obtendremos la información necesaria para evaluar la importancia de cada una de las variables.

Tabla 4. Resultados de los diseños experimentales

Experiencia	Intensidad de fluorescencia				
	As	Bi	Sb	Se	Te
1	195.70	67.00	61.50	138.70	114.60
2	168.00	88.05	40.45	154.25	113.60
3	260.90	86.70	233.15	81.90	91.40
4	197.05	55.65	51.45	148.50	81.65
5	253.80	84.05	0	167.15	120.05
6	307.50	0	53.20	139.30	28.45
7	214.15	0	79.85	69.70	97.25
8	171.65	64.15	110.70	116.10	85.85
9	51.25	74.30	58.80	111.20	135.65
10	78.60	86.70	33.70	144.90	144.90
11	166.50	73.15	64.65	119.70	109.30
12	45.95	70.85	37.20	104.20	123.65

A continuación (**Figura 3**) se muestran las cartas Pareto de primer orden para las variables objeto de estudio en la determinación de As, Bi, Sb, Se y Te obtenidas utilizando el paquete estadístico Statgraphics Plus 4.0.

Del análisis de estas cartas obtenemos información sobre los efectos de cada variable, así como el valor de la $t_{\text{experimental}}$ para cada una de ellas (**Tabla 5**).

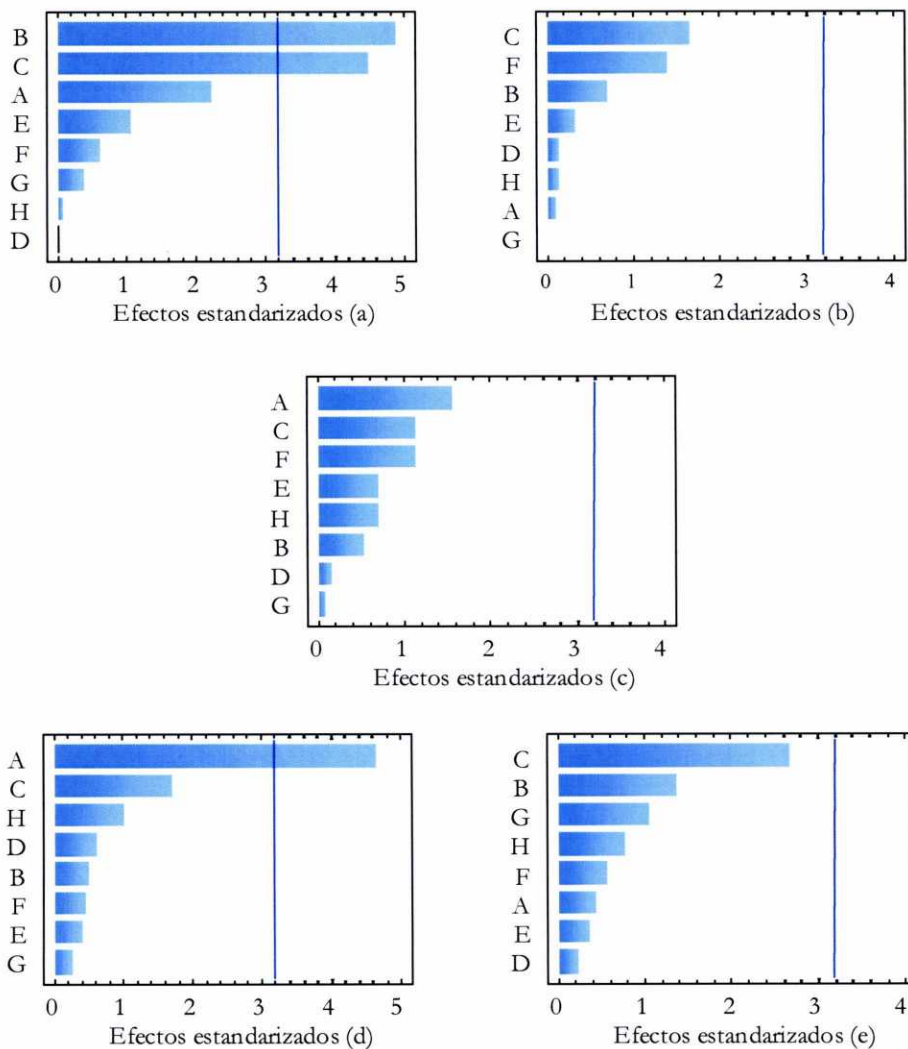


Figura 3. Cartas Pareto de primer orden para la determinación de As (a), Bi (b), Sb(III) (c), Se(IV) (d) y Te (e)

Tabla 5. Efectos estimados de las variables

Variable	As		Bi		Sb		Se		Te	
	Efecto	t _{experimental}	Efecto	t _{experimental}	Efecto	t _{experimental}	Efecto	t _{experimental}	Efecto	t _{experimental}
A	48.375	2.2	2.05	0.1	-57.3417	1.58	48.3333	4.6	-6.64167	0.42
B	105.108	4.8	-14.45	0.75	19.6583	0.55	-5.26667	0.5	-21.0417	1.38
C	97.1417	4.5	-33.9333	1.65	41.4417	1.18	-17.8667	1.75	-41.325	2.75
D	0.125	0.05	-3.03333	0.19	-5.95833	0.18	6.36667	0.6	3.625	0.22
E	22.725	1.1	6.86667	0.3	25.7417	0.7	4.25	0.4	-5.625	0.38
F	-13.4917	0.6	-28.5	1.4	-41.2917	1.18	-4.83333	0.45	-8.65833	0.58
G	8.29167	0.4	-0.0833333	0.05	-2.90833	0.08	2.81667	0.28	16.2583	1.1
H	1.69167	0.1	-2.88333	0.18	-25.4083	0.7	10.4833	1.05	-11.9083	0.8

Como se observa en la **Figura 3**, para la determinación de Bi, Sb(III) y Te ninguna variable resultó significativa, ya que los efectos de las variables son bajos y no sobrepasaron el valor de $t_{\text{crítico}}$ (3.2 para todos).

Para el As resultaron significativas las variables B y C, es decir, la concentración y el caudal de NaBH_4 , sobrepasando ambas el valor de $t_{\text{crítico}}=3.2$; además, los efectos de ambas variables resultaron ser positivos, es decir, al aumentar la concentración y el caudal de NaBH_4 la señal de fluorescencia aumenta (**Tabla 5**). Para el Se(IV), la variable A (concentración de HCl) resultó significativa ($t_{\text{experimental}}=4.6 > t_{\text{crítica}}=3.2$) afectando positivamente.

Como ya se ha indicado, la “confusión” significa que el efecto calculado ($t_{\text{experimental}}$) para cada una de las variables analíticas, no es debido sólo a dicha variable, sino que también puede incluir el efecto debido a combinaciones de variables, por lo tanto las posibles interacciones entre variables serán también objeto de estudio [33].

Se estudian las interacciones de segundo orden (tomando las variables de tres en tres), eliminando para ello las que puedan enmascarar los resultados finales y llevarnos a tomar decisiones equivocadas.

A continuación, se muestran algunas de las interacciones estudiadas en las que se observan las variables significativas resultantes del estudio (**Figura 4**).

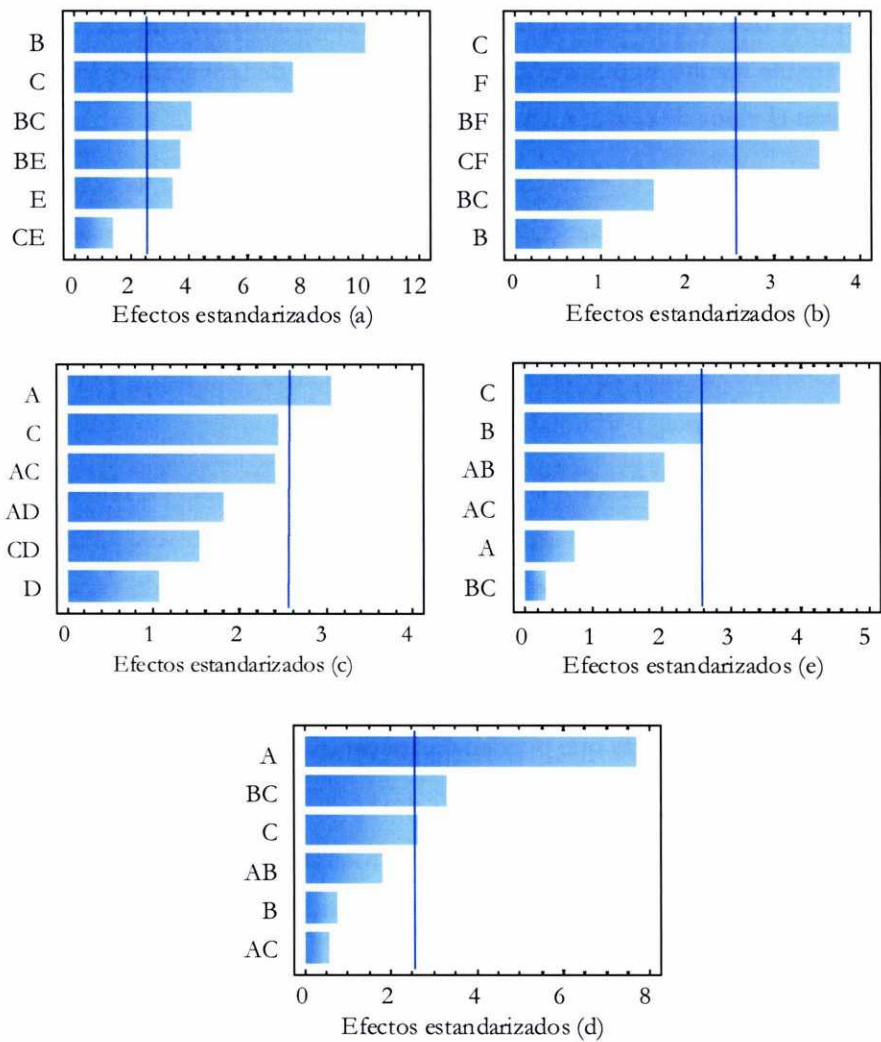


Figura 4. Cartas Pareto de segundo orden para la determinación de As (a), Bi (b), Sb(III) (c), Se(IV) (d) y Te (e)

De los resultados se concluye que para la determinación de As a partir de As(III) además de las variables significativas obtenidas de las cartas Pareto de primer orden B y C (concentración y caudal de NaBH_4), se obtiene también como significativa la variable E (tiempo de análisis).

Para la determinación de Bi este estudio de interacciones revela las variables C y F (caudal de NaBH_4 y tiempo de memoria, respectivamente) como significativas.

Para el Sb(III), se obtiene la variable A (concentración de HCl) como significativa.

Para el Se(IV), estos estudios muestran la variable C (caudal de NaBH_4) como significativa, además de la variable A (concentración de HCl) que ya mostraban las cartas Pareto de primer orden.

Finalmente, para el Te resultaron significativas las variables B y C (concentración y caudal de NaBH_4 , respectivamente).

A modo de resumen se muestran a continuación las variables que resultaron significativas en la determinación de As, Bi, Sb(III), Se(IV) y Te para su posterior análisis por HG-AFS (**Tabla 6**).

Para las restantes variables, como su variación no provoca cambios relevantes en el sistema, se le fija el valor que creamos apropiado para nuestro estudio, intentando conseguir el mínimo consumo de reactivos y tiempos de análisis cortos.

Tabla 6. Variables significativas para la determinación de As, Bi, Sb(III), Se(IV) y Te mediante HG-AFS

Elemento	Código	Variable
As	B	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)
	C	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹
	E	Tiempo análisis/s
Bi	C	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹
	F	Tiempo memoria/s
Sb	A	Concentración HCl/M
Se	A	Concentración HCl/M
	C	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹
Te	B	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)
	C	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹

Según esto, los valores de las variables no significativas serán (**Tabla 7**):

A continuación, se optimizan las variables que resultaron significativas mediante un diseño compositacional.

Tabla 7. Valores de las variables que no resultaron significativas

Elemento	Código	Variable	Valor
As	A	Concentración HCl/M	4.8
	D	Tiempo demora/s	20
	F	Tiempo memoria/s	40
Bi	A	Concentración HCl/M	4.8
	B	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	0.7
	D	Tiempo demora/s	10
	E	Tiempo análisis/s	50
Sb	B	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	1
	C	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	10
	D	Tiempo demora/s	10
	E	Tiempo análisis/s	50
	F	Tiempo memoria/s	40
Se	B	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	0.7
	D	Tiempo demora/s	20
	E	Tiempo análisis/s	50
	F	Tiempo memoria/s	40
Te	A	Concentración HCl/M	3
	D	Tiempo demora/s	20
	E	Tiempo análisis/s	20
	F	Tiempo memoria/s	40

3.2. OPTIMIZACIÓN DE LAS VARIABLES SIGNIFICATIVAS

En el presente apartado se aborda la optimización de las variables que resultan significativas para el desarrollo de los métodos de determinación de As, Bi, Sb(III), Se(IV) y Te mediante HG-AFS. Para ello se utiliza el espectrofotómetro de fluorescencia atómica citado en el apartado anterior (**Figura 1**) y las condiciones instrumentales dadas en la **Tabla 1**.

Dichas variables se optimizan mediante un diseño composicional 2^2 +star (en el caso de Bi, Se y Te) y 2^3 +star (en el caso del As), estableciendo un intervalo de estudio para cada variable de la misma forma que se hizo a la hora de realizar el diseño de Packett-Burman y empleando el paquete estadístico Statgraphics Plus 4.0.

Para el caso del Sb, debido a que sólo una variable resultó significativa, la optimización se realizará utilizando un método univariante, ya que es inviable el uso de un diseño composicional para este fin.

Para la realización del diseño composicional, se establece el mismo intervalo de estudio para cada variable que el utilizado en el diseño de Plackett-Burman. De esta manera, en la **Tabla 8** se muestran las variables a optimizar, así como los valores altos (+) y bajos (-) para cada variable.

Tabla 8. Valores de las variables a optimizar para la determinación de As, Bi, Se(IV) y Te

Elemento	Código	Variable	Bajo(-)	Alto(+)
As	B	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	0.7	1
	C	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	5	10
	E	Tiempo análisis/s	20	50
Bi	C	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	5	10
	F	Tiempo memoria/s	40	70
Se	A	Concentración HCl/M	3	4.8
	C	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	5	10
Te	B	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	0.7	1
	C	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	5	10

Con estos valores obtenemos las matrices del diseño composicional 2^2 +star y 2^3 +star para cada elemento, las cuales conllevan la realización de 10 y 16 experiencias respectivamente (**Tablas 9-12**).

Tabla 9. Matriz del diseño composicional para la determinación de As

Experiencia	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	Caudal NaBH ₄ / mL min ⁻¹	Tiempo análisis/s
1	K ₀ ^a	K ₀ ^b	K ₀ ^c
2	-	-	-
3	+	-	-
4	-	+	-
5	+	+	-
6	-	-	+
7	+	-	+
8	-	+	+
9	+	+	+
10	-α ^d	K ₀ ^b	K ₀ ^c
11	+α ^e	K ₀ ^b	K ₀ ^c
12	K ₀ ^a	-α ^f	K ₀ ^c
13	K ₀ ^a	+α ^g	K ₀ ^c
14	K ₀ ^a	K ₀ ^b	-α ^h
15	K ₀ ^a	K ₀ ^b	+α ⁱ
16	K ₀ ^a	K ₀ ^b	K ₀ ^c

^aK₀=0.85

^bK₀=7.5

^cK₀=40.0

^d-α=0.597731

^e+α=1.10227

^f-α=3.29552

^g+α=11.7045

^h-α=6.36414

ⁱ+α=73.6359

Tabla 10. Matriz del diseño composicional para la determinación de Bi

Experiencia	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	Tiempo memoria/s
1	K ₀ ^a	K ₀ ^b
2	-	-
3	+	-
4	-	+
5	+	+
6	-α ^c	K ₀ ^b
7	+α ^d	K ₀ ^b
8	K ₀ ^a	-α ^e
9	K ₀ ^a	+α ^f
10	K ₀ ^a	K ₀ ^b

^aK₀=7.5

^bK₀=55.0

^c-α=3.96447

^d+α=11.0355

^e-α=33.7868

^f+α=76.2132

En este caso, el diseño composicional se realizará por duplicado, ya que se ha comprobado que de esta forma se consigue un valor del óptimo más fiable [34].

Así, para la determinación de As se realizará un composicional 2³+star, el cual, duplicado, conlleva la realización de 32 experiencias. Para la determinación de Bi, Se(IV) y Te se realizará un composicional 2²+star por duplicado con 20 experiencias en total para cada elemento.

Dichas experiencias se realizarán con las mismas concentraciones de cada elemento utilizadas en los estudios de identificación de las variables significativas.

Tabla 11. Matriz del diseño composicional para la determinación de Se(IV)

Experiencia	Concentración HCl/M	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹
1	K ₀ ^a	K ₀ ^b
2	-	-
3	+	-
4	-	+
5	+	+
6	-α ^c	K ₀ ^b
7	+α ^d	K ₀ ^b
8	K ₀ ^a	-α ^e
9	K ₀ ^a	+α ^f
10	K ₀ ^a	K ₀ ^b

^aK₀=3.9

^bK₀=7.5

^c-α=2.6

^d+α=5.17

^e-α=3.96447

^f+α=11.0355

Tabla 12. Matriz del diseño composicional para la determinación de Te

Experiencia	Concentración NaBH ₄ / %(m/v)	Caudal NaBH ₄ / mL min ⁻¹
1	K ₀ ^a	K ₀ ^b
2	-	-
3	+	-
4	-	+
5	+	+
6	-α ^c	K ₀ ^b
7	+α ^d	K ₀ ^b
8	K ₀ ^a	-α ^e
9	K ₀ ^a	+α ^f
10	K ₀ ^a	K ₀ ^b

^aK₀=0.85

^bK₀=7.5

^c-α=0.63

^d+α=1.06

^e-α=3.96447

^f+α=11.0355

Una vez realizados los experimentos de acuerdo con las correspondientes matrices se obtienen los siguientes resultados (**Tablas 13 y 14**).

Tabla 13. Resultados del diseño composicional para la determinación de As

Experiencia	Intensidad de fluorescencia
1	159.90
2	92.65
3	140.70
4	174.90
5	230.10
6	115.25
7	214.70
8	170.40
9	257.50
10	72.10
11	269.15
12	31.05
13	187.50
14	92.80
15	254.70
16	250.40
17	240.80
18	92.25
19	152.80
20	174.50
21	232.30
22	113.20
23	219.50
24	189.85
25	256.15
26	69.70
27	260.80
28	31.45
29	216.50
30	91.80
31	258.80
32	242.80

Tabla 14. Resultados del diseño composicional para la determinación de Bi, Se(IV) y Te

Experiencia	Intensidad de fluorescencia		
	Bi	Se	Te
1	82.05	97.05	116.80
2	82.60	95.05	121.20
3	80.30	78.20	98.90
4	79.65	79.40	78.70
5	46.85	72.00	28.00
6	76.30	98.90	106.65
7	71.95	95.50	46.40
8	80.95	69.05	125.10
9	74.05	94.20	50.40
10	77.35	93.85	126.50
11	81.05	92.85	119.30
12	80.65	92.40	127.60
13	68.80	80.00	102.40
14	78.50	90.20	79.70
15	43.60	53.40	38.20
16	74.60	99.15	112.95
17	78.10	99.15	52.65
18	81.45	67.80	132.70
19	79.80	110.60	16.30
20	77.95	89.10	101.85

Una vez obtenidos estos datos, se introducen en el diseño composicional que nos ayudará a obtener el óptimo para cada variable. Este estudio se realizará con ayuda de las superficies de respuesta estimadas para dos variables y con el contorno de dichas superficies de manera similar al estudio realizado en el capítulo anterior.

A continuación se muestran las superficies de respuesta y sus contornos para el estudio del composicional para cada uno de los analitos estudiados (**Figuras 5-8**).

Arsénico

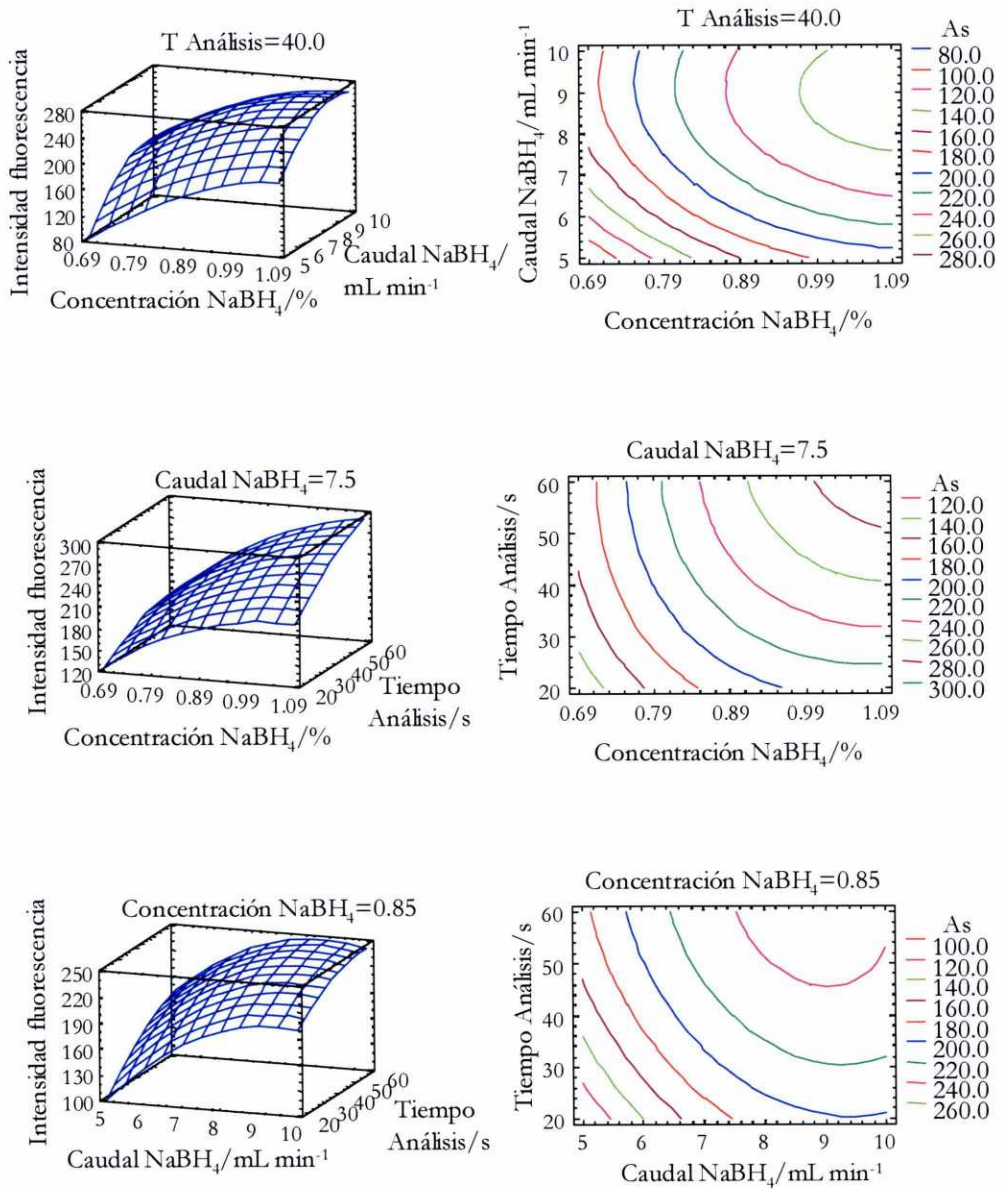


Figura 5. Superficie de respuesta y contorno obtenidos para la determinación de As

Como se observa en la **Figura 5**, la intensidad de fluorescencia aumenta al incrementarse la concentración de NaBH_4 , lo que era esperado, ya que dicha variable (B) afecta positivamente al sistema como hemos visto en el apartado anterior. Esto es así hasta que se alcanza un valor óptimo de la variable, manteniéndose constante el valor de la intensidad. Esto mismo ocurre con la variable tiempo de análisis (E), alcanzándose un óptimo a valores altos de la variable, a partir del cual la intensidad se mantiene constante. Para la variable caudal de NaBH_4 (C) ocurre lo mismo, aumenta el valor de la intensidad al incrementarse el caudal hasta que se alcanza un óptimo, disminuyendo a continuación para valores mayores de esa variable.

De esta manera, se obtienen los valores óptimos que se muestran en la **Tabla 15**.

Tabla 15. Valores óptimos para las variables significativas en la determinación de As

Código	Variable	Valor óptimo
B	Concentración NaBH_4 /%(m/v)	1.0
C	Caudal NaBH_4 /mL min^{-1}	8.4
E	Tiempo análisis/s	74

Bismuto

Como se aprecia en la **Figura 6**, para la variable caudal de NaBH_4 se observa un ligero aumento de la intensidad de fluorescencia al incrementarse el valor de dicha variable hasta que se alcanza un valor óptimo, momento en el cual la intensidad comienza a disminuir. Para la variable tiempo de memoria (F) no se alcanza un óptimo, ya que se observa que el valor más bajo de dicha variable (33.7868) es el que proporciona la máxima intensidad de fluorescencia, pero sin alcanzarse un óptimo definido. Esto es debido a que el óptimo no se encuentra dentro del intervalo de valores tomado para la variable F (**Tabla 8**).

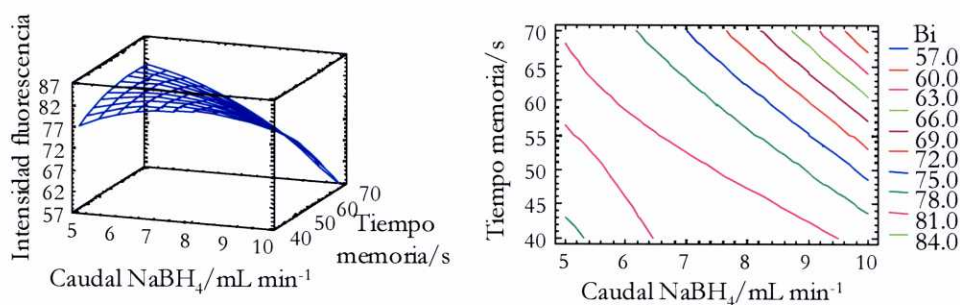


Figura 6. Superficie de respuesta y contorno obtenidos para la determinación de Bi

Por todo ello, se realizará un nuevo diseño composicional variando el intervalo de valores para la variable tiempo de memoria (F), y manteniendo el mismo intervalo para la variable caudal de NaBH_4 (C).

Los nuevos valores para cada variable se muestran a continuación:

Tabla 16. Valores de las variables a optimizar para la determinación de Bi

Código	Variable	Bajo(-)	Alto(+)
C	Caudal $\text{NaBH}_4/\text{mL min}^{-1}$	5	10
F	Tiempo memoria/s	10	50

Con estos valores obtenemos la matriz del diseño composicional $2^{2+\text{star}}$, la cual conlleva la realización de 10 experiencias (**Tabla 17**).

Tabla 17. Matriz del diseño composicional para la determinación de Bi

Experiencia	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	Tiempo memoria/s
1	K ₀ ^a	K ₀ ^b
2	-	-
3	+	-
4	-	+
5	+	+
6	-α ^c	K ₀ ^b
7	+α ^d	K ₀ ^b
8	K ₀ ^a	-α ^e
9	K ₀ ^a	+α ^f
10	K ₀ ^a	K ₀ ^b

^aK₀=7.5

^bK₀=30.0

^c-α=3.96447

^d+α=11.0355

^e-α=1.71573

^f+α=58.2843

Se realizará el composicional por duplicando resultando, por lo tanto, 20 experiencias, y se llevará a cabo con la misma concentración de Bi que el composicional anterior.

Una vez realizados los experimentos de acuerdo con la correspondiente matriz se obtienen los siguientes resultados (**Tabla 18**).

Tabla 18. Resultados del diseño composicional para la determinación de Bi

Experiencia	Intensidad fluorescencia
1	87.90
2	78.05
3	56.00
4	75.10
5	62.40
6	82.60
7	79.20
8	83.00
9	78.20
10	82.75
11	87.20
12	75.15
13	56.85
14	75.05
15	69.45
16	83.10
17	90.50
18	86.20
19	85.95
20	86.80

Una vez obtenidos estos datos, se introducen en el diseño composicional que nos ayudará a obtener el óptimo para cada variable. A continuación se muestran las superficies de respuesta y su contorno (**Figura 7**).

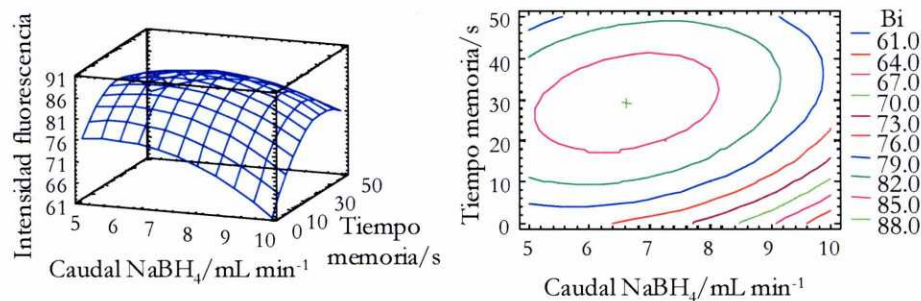


Figura 7. Superficie de respuesta y contorno obtenidos para la determinación de Bi

Como se observa en la **Figura 7**, la intensidad de fluorescencia aumenta al incrementarse ambas variables hasta que se alcanza un valor óptimo, a partir del cual, la intensidad debida al Bi comienza a disminuir. En el contorno de la superficie de respuesta se observa el valor óptimo de ambas variables que resultó ser de 29 s para el tiempo de memoria y 6.6 mL min⁻¹ para el caudal de NaBH₄, valores bajos como era de esperar ya que ambas variables afectan negativamente.

De esta manera, se obtienen los valores óptimos que se muestran en la **Tabla 19**.

Tabla 19. Valores óptimos para las variables significativas en la determinación de Bi

Código	Variable	Valor óptimo
C	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	6.6
F	Tiempo memoria/s	29

Selenio

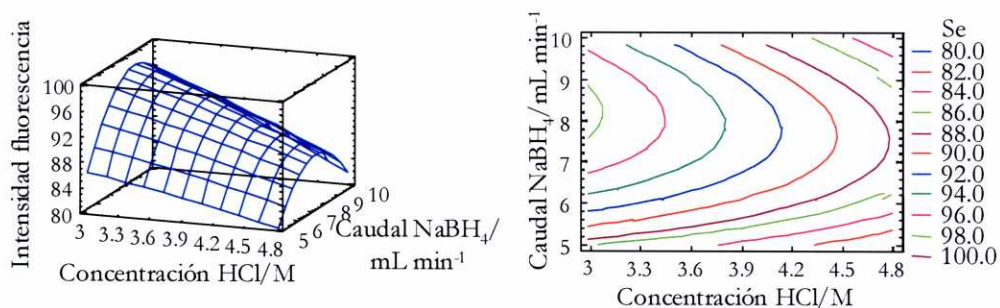


Figura 8. Superficie de respuesta y contorno obtenidos para la determinación del hidruro de Se

Como se observa en la **Figura 8**, para la variable C (caudal NaBH₄), la intensidad de fluorescencia debida al Se aumenta al incrementarse el valor de la variable hasta que se alcanza un óptimo (8.5 mL min⁻¹) a partir del cual dicha intensidad disminuye. No ocurre así con la variable A (concentración HCl), en la que se observa una disminución constante de la intensidad de fluorescencia.

El valor óptimo no se encuentra dentro del intervalo estudiado, pero con una concentración menor de HCl sería inviable la medida ya que la llama de difusión de hidrógeno no llega a encenderse, por lo tanto tomaremos como valor óptimo de concentración de HCl el que nos da el programa estadístico que es 2.6 M.

De esta manera, se obtienen los valores óptimos que se muestran en la **Tabla 20**.

Tabla 20. Valores óptimos para las variables significativas en la determinación de Se

Código	Variable	Valor óptimo
A	Concentración HCl/M	2.6
C	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	8.5

Teluro

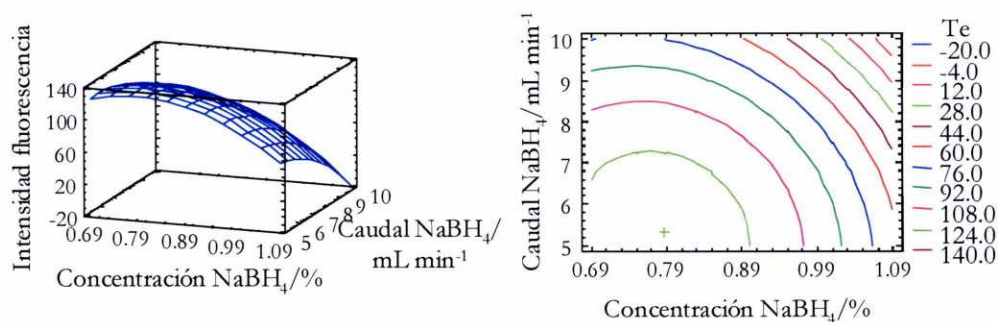


Figura 9. Superficie de respuesta y contorno obtenidos para la determinación de Te

En la **Figura 9** se observan los valores óptimos para las variables B y C (concentración y caudal de NaBH_4). Ambas variables afectan negativamente a la generación del hidruro de Te, lo que explica que los valores más altos de intensidad de fluorescencia se alcanzan a valores bajos de las variables.

De esta manera, se obtienen los valores óptimos que se muestran en la **Tabla 21**.

Tabla 21. Valores óptimos para las variables significativas en determinación de Te

Código	Variable	Valor óptimo
B	Concentración $\text{NaBH}_4/\%$ (m/v)	0.8
C	Caudal $\text{NaBH}_4/\text{mL min}^{-1}$	5

Antimonio

Finalmente, para la optimización de las variables que afectan a la determinación de Sb, se debe seguir un esquema clásico debido a que sólo una variable resultó significativa (concentración de HCl) en el diseño de experiencias de Plackett-Burman.

Se investigan distintas concentraciones de HCl desde 2.5 M hasta 4.8 M manteniendo constantes las demás variables que influyen en la generación. Para las

variables B y C (concentración y caudal de NaBH_4) se obtuvieron unos valores óptimos (**Tabla 7**) de 1% y 10 mL min^{-1} respectivamente, que corresponden con los valores más altos del intervalo tomado, pero dichas condiciones de reductor son muy enérgicas y la medida resulta inviable. Por ello, el estudio de la variable significativa (A) se realizará primero tomando el valor bajo de la variable concentración de NaBH_4 (0.7%) y a continuación tomando el valor bajo para la variable caudal de NaBH_4 (5 mL min^{-1}). Ambos estudios se llevarán a cabo utilizando una concentración de $4 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb.

Los resultados se muestran a continuación:

Tabla 22. Condiciones fijadas en el estudio univariante modificando la variable B

Código	Variable	Valor
B	Concentración $\text{NaBH}_4/\%(\text{m/v})$	0.7
C	Caudal $\text{NaBH}_4/\text{mL min}^{-1}$	10
D	Tiempo demora/s	10
E	Tiempo análisis/s	50
F	Tiempo memoria/s	40

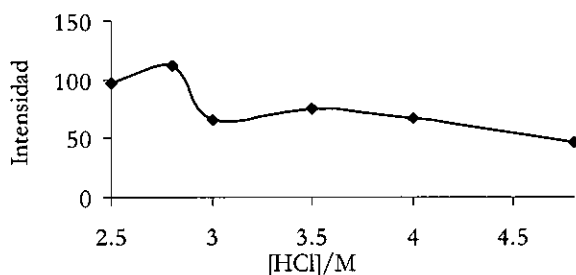


Figura 10. Optimización univariante de la concentración de HCl para un valor de concentración de NaBH_4 : 0.7%(m/v)

Tabla 23. Condiciones fijadas en el estudio univariante modificando variable C

Código	Variable	Valor
B	Concentración $\text{NaBH}_4/\%$ (m/v)	1
C	Caudal $\text{NaBH}_4/\text{mL min}^{-1}$	5
D	Tiempo demora/s	10
E	Tiempo análisis/s	50
F	Tiempo memoria/s	40

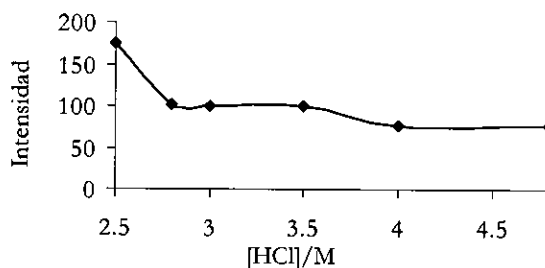


Figura 11. Optimización univariante de la concentración de HCl para un valor de caudal de NaBH_4 : 5 mL min^{-1}

En las **Figuras 10-11** se observa que la concentración óptima para la variable concentración de HCl es 2.5 M, observándose mejores resultados cuando se disminuye la variable caudal de NaBH_4 . Se tomará, por lo tanto el valor menor de dicha variable ya que es la que más importancia tiene en la generación y la que mejores resultados proporciona.

Finalmente, las condiciones óptimas seleccionadas para la determinación de As, Bi, Sb(III), Se(IV) y Te mediante HG-AFS se muestran a continuación.

Tabla 24. Valores óptimos para la determinación de As, Bi, Sb(III), Se(IV) y Te

Código	Variable	As	Bi	Sb(III)	Se(IV)	Te
A	Concentración HCl/M	4.8	4.8	2.5	2.6	3
B	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	1	0.7	1	0.7	0.8
C	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	7.5	5	5	7.5	5
D	Tiempo demora/s	20	10	10	20	20
E	Tiempo análisis/s	74	50	50	50	20
F	Tiempo memoria/s	40	29	40	40	40

Se ha comprobado que en las condiciones de generación del As(III) también se reduce el As(V), por lo que tenemos un método de determinación de As inorgánico total. En el caso del Sb(III) solo se reduce un 32% del Sb(V).

3.3. CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DE LOS MÉTODOS

En el presente apartado, se pretende evaluar el posible efecto de la matriz en los métodos de determinación de As, Bi, Sb(III), Se(IV) y Te desarrollados, así como la sensibilidad, precisión y exactitud de dichos métodos.

3.3.1. Rectas de calibrado y adición

Se muestran a continuación, las rectas de calibrado y adición obtenidas para la determinación de As, Bi, Sb(III), Se(IV) y Te mediante HG-AFS.

En la determinación de *arsénico*, las rectas de calibrado fueron preparadas con concentraciones de 0, 100, 200 y 300 ng L⁻¹ de As, mientras que en las rectas de adición se adicionaron volúmenes de disolución patrón de As (para obtener concentraciones de 0, 100, 200 y 300 ng L⁻¹) a 5 mL de agua de mar y 2 mL de agua termal para determinar el posible efecto matriz, utilizando en todos los casos una ganancia de 100, debido a que con la máxima ganancia que permite el detector (1000)

se obtiene saturación de la señal. El volumen final utilizado fue de 50 mL. Los resultados se muestran en las **Tabla 25** y **Figura 12**.

Tabla 25. Rectas de calibrado y adición para el As

	As
Calibrado acuoso	$I=46.12+0.65[\text{As}]$
Adición mar	$I=191.5+0.42[\text{As}]$
Adición termal	$I=130.0+0.40[\text{As}]$

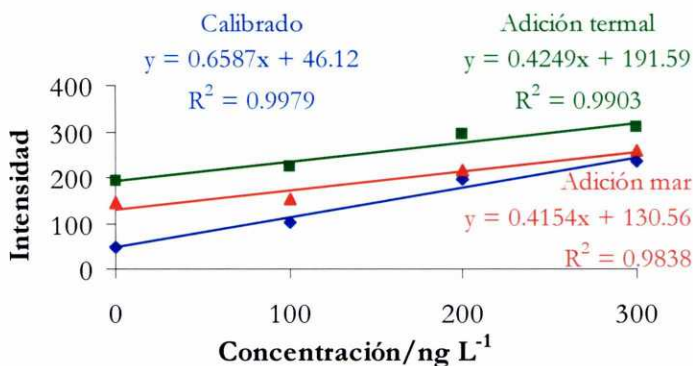


Figura 12. Rectas de calibrado y adición para el As

A continuación se realiza una comparación entre las pendientes del calibrado y las adiciones para comprobar si existe o no efecto matriz. Dichos estudios se realizan aplicando el test de igualdad de las pendientes del mismo modo que en el capítulo anterior [35].

No se encontraron diferencias significativas entre las varianzas ni entre las pendientes de las rectas de calibrado y adición al 95% de confianza, por lo que pueden considerarse paralelas.

En la determinación de **bismuto**, las rectas de calibrado fueron preparadas con concentraciones de 0, 0.5, 1 y 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Bi, mientras que en las rectas de adición se adicionaron volúmenes de disolución patrón de Bi (para obtener concentraciones de 0, 0.5, 1 y 2 $\mu\text{g L}^{-1}$) a 5 mL de agua de mar y 2 mL de agua termal para determinar el posible efecto matriz, utilizando para estos estudios la máxima ganancia permitida (1000). El volumen final fue de 25 mL. Los resultados se muestran en la **Tabla 26** y **Figura 13**.

Tabla 26. Rectas de calibrado y adición para el Bi

Bi	
Calibrado acuoso	$I=4.75+37.78[\text{Bi}]$
Adición mar	$I=18.61+37.30[\text{Bi}]$
Adición termal	$I=21.05+34.38[\text{Bi}]$

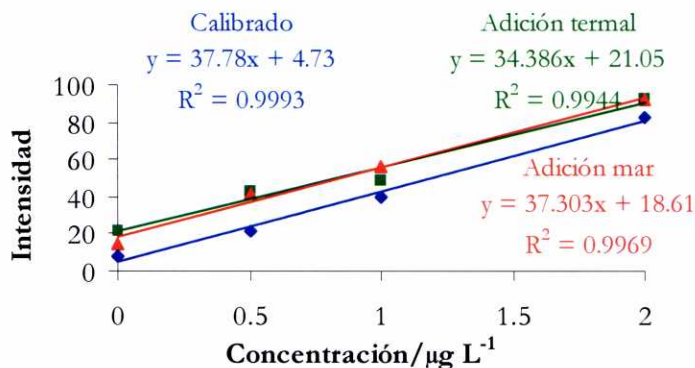


Figura 13. Rectas de calibrado y adición para el Bi

Tras la aplicación del test t de igualdad de las pendientes se comprobó que no difieren significativamente a un nivel de confianza del 95%.

En la determinación de **antimonio**, las rectas de calibrado fueron preparadas con concentraciones de 0, 2, 4 y 6 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Sb, mientras que en las rectas de adición se adicionaron volúmenes de disolución patrón de Sb (para obtener concentraciones de 0, 2, 4 y 6 $\mu\text{g L}^{-1}$) a 5 mL de agua de mar y 2 mL de agua termal para determinar el posible efecto matriz, utilizando en todos los casos una ganancia de 100, debido a que con la máxima ganancia que permite el detector (1000) se obtiene saturación de la señal debida a la señal que producen los reactivos. El volumen final fue de 50 mL. Los resultados se muestran en la **Tabla 27** y **Figura 14**.

Tabla 27. Rectas de calibrado y adición para el Sb

Sb	
Calibrado acuoso	$I=96.23+75.48[\text{Sb}]$
Adición mar	$I=86.60+63.8[\text{Sb}]$
Adición termal	$I=207.3+51.7[\text{Sb}]$

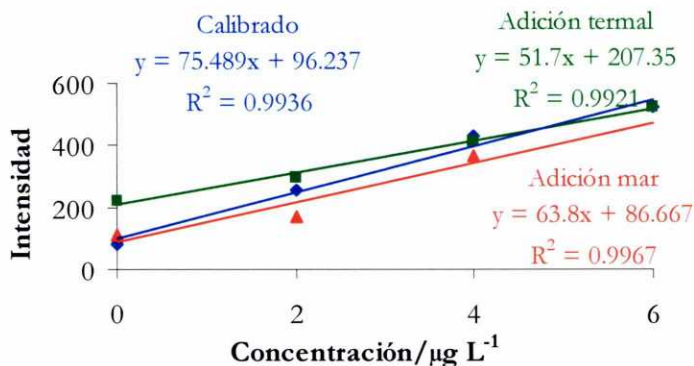


Figura 14. Rectas de calibrado y adición para el Sb

Mientras las rectas de calibrado y adición de mar resultaron ser paralelas al 95% de confianza, no sucede así con la adición termal, para la cual se encontraron diferencias significativas entre su pendiente y la pendiente de la recta de calibrado.

En la determinación de **selenio**, las rectas de calibrado fueron preparadas con concentraciones de 0, 20, 40 y 60 ng L⁻¹ de Se, mientras que en las rectas de adición se adicionaron volúmenes de disolución patrón de Se (para obtener concentraciones de 0, 20, 40 y 60 ng L⁻¹) a 5 mL de agua de mar y 2 mL de agua termal para determinar el posible efecto matriz, utilizando en todos los casos la máxima ganancia que permite el detector (1000). Se utilizó un volumen final de 50 mL. Los resultados se muestran en la **Tabla 28** y **Figura 15**.

Tabla 28. Rectas de calibrado y adición para el Se

Se	
Calibrado acuoso	$I=5.16+3.75[Se]$
Adición mar	$I=154.2+4.5[Se]$
Adición termal	$I=23.6+3.71[Se]$

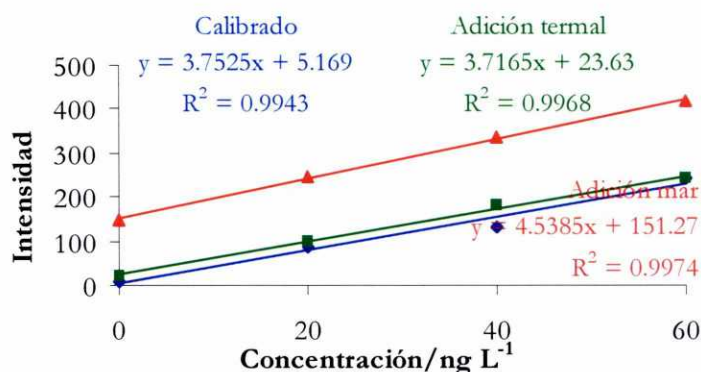


Figura 15. Rectas de calibrado y adición para el Se

Se comprobó mediante un test t que las rectas de calibrado y adición son paralelas para un nivel de confianza del 95%.

En la determinación de **teluro**, las rectas de calibrado fueron preparadas con concentraciones de 0, 0.5, 1 y 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Te, mientras que en las rectas de adición se adicionaron volúmenes adecuados de disolución patrón de Te (para obtener concentraciones de 0, 0.5, 1 y 2 $\mu\text{g L}^{-1}$) a 5 mL de agua de mar y 2 mL de agua termal para determinar el posible efecto matriz, utilizando en todos los casos la máxima ganancia que permite el detector (1000). El volumen final fue de 25 mL. Los resultados se muestran en la **Tabla 29** y **Figura 16**

Tabla 29. Rectas de calibrado y adición para el Te

Te	
Calibrado acuoso	$I=8.97+50.22[\text{Te}]$
Adición mar	$I=-2.27+48.13[\text{Te}]$
Adición termal	$I=6.80+47.79[\text{Te}]$

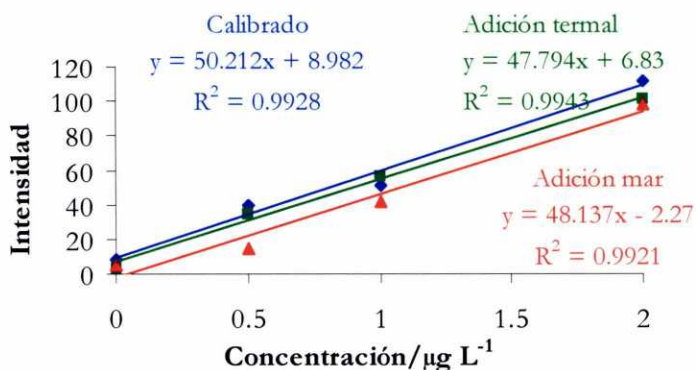


Figura 16. Rectas de calibrado y adición para el Te

Como se observa en la **Tabla 29** no existe sensibilidad suficiente para determinar Te en las muestras de agua de mar y agua termal estudiadas. Las rectas de calibrado y adición resultaron ser paralelas tras la realización del test t de igualdad de las pendientes.

3.3.2. Límites de detección y cuantificación

La sensibilidad de los métodos desarrollados, se estudió a partir de dos parámetros: límites de detección y cuantificación definidos en el capítulo anterior.

Los resultados obtenidos de estos dos parámetros se muestran a continuación:

Tabla 30. Límites de detección y cuantificación obtenidos para los métodos desarrollados

	LOD/ $\mu\text{g L}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g L}^{-1}$
As*	13.7	44
Bi	0.04	0.13
Sb	0.07	0.25
Se*	3.30	11.0
Te	0.29	0.90

* ng L^{-1}

3.3.3. Precisión

Para estudiar la precisión de los métodos desarrollados, se toman muestras de agua de mar y agua termal, a las que se añaden concentraciones distintas de cada metal. Se estudia la repetibilidad con la concentración para cada metal y el resultado se expresa como *desviación estándar relativa* (RSD, *Relative Standard Deviation*) correspondiente a once medidas para cada nivel.

Los resultados se muestran en las **Figuras 17-19**.

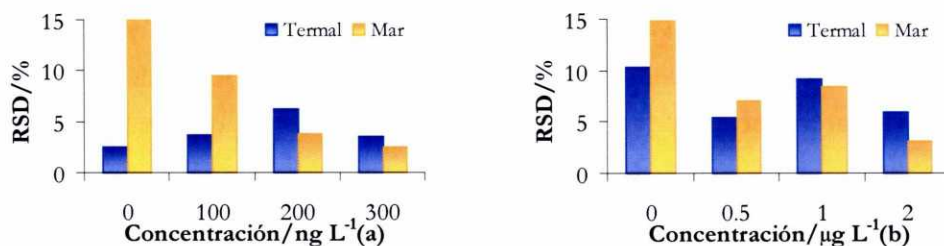


Figura 17. Desviación estándar relativa para el As (a) y Bi (b)

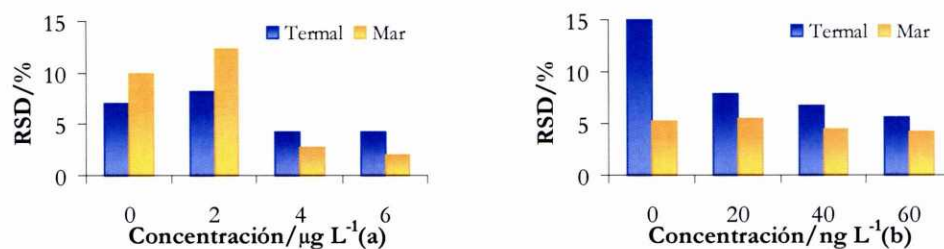


Figura 18. Desviación estándar relativa para el Sb (a) y Se (b)

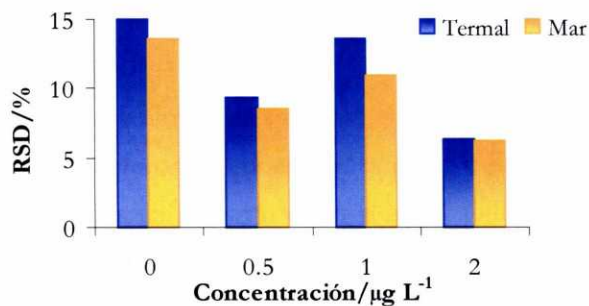


Figura 19. Desviación estándar relativa para el Te

Como puede verse, la precisión obtenida para todos los metales es similar y aceptable para todas las concentraciones de analito estudiadas, si bien se observa un empeoramiento de la precisión a bajas concentraciones. Del mismo cuando se trabaja con máxima ganancia (1000) se produce un empeoramiento de la precisión.

3.3.4. Exactitud

Se estudió la exactitud para todos los metales utilizando para ello distintos materiales de referencia, tanto acuosos como sólidos.

Se estudiaron dos materiales de referencia acuosos (TM-24 y CASS-3, *Nearshore Seawater reference Material for Trace Metals*), un material de carbón (SRM 1632c, *Trace Elements in Coal (Bituminous)*), un suelo (CRM GBW07401 del *National Research council of Reference Materials, China*) y un material de ceniza (SRM 1633a, *Trace Elements in Coal Fly Ash*).

Cada material fue medido once veces. En las **Tablas 31-35** se muestran dichos resultados, así como las recuperaciones obtenidas (valor obtenido/valor certificado). La ceniza no se encuentra certificada para Bi y Te, al igual que ocurre con el agua de referencia CASS-3 para Bi, Sb y Te.

Como se puede observar las recuperaciones obtenidas son aceptables en la mayoría de los casos.

Arsénico

Tabla 31. Exactitud del método de determinación de As (n=11)

	Concentración As±SD		
	Valor certificado	Valor obtenido	R (%)
TM-24 ^a	2.7±1	2.90±0.02	107±0.7
CASS-3 ^a	1.09±0.07	1.18±0.01	108±0.6
GBW07401 ^b	34±5	27.06±0.16	79±0.5
1632c ^b	6.18±0.27	4.38±0.11	71±1.8
1633a ^b	145±15	106.70±0.57	73±0.4

^aConcentración en µg L⁻¹

^bConcentración en µg g⁻¹

Bismuto

Tabla 32. Exactitud del método de determinación de Bi (n=11)

	Concentración Bi±SD		
	Valor certificado	Valor obtenido	R (%)
TM-24 ^a	2.5*	3.0±0.13	120±5.2
GBW07401 ^b	1.2±0.2	1.30±0.20	108±16.6
1632c ^b	0.1*	0.09±0.01	90±10.0

^aConcentración en µg L⁻¹

^bConcentración en µg g⁻¹

*Valor informativo

Antimonio

Tabla 33. Exactitud del método de determinación de Sb (n=11)

	Concentración Sb±SD		
	Valor certificado	Valor obtenido	R (%)
TM-24 ^a	13.7±8.5	13.0±0.7	95±5.4
CASS-3 ^a	-	-	-
GBW07401 ^b	0.87±0.32	0.94±0.10	108±11.5
1632c ^b	0.461±0.029	0.55±0.10	119±21.7
1633a ^b	6.8±0.4	6.12±0.33	90±4.8

^aConcentración en µg L⁻¹

^bConcentración en µg g⁻¹

Selenio

Tabla 34. Exactitud del método de determinación del hidruro de Se (n=11)

	Concentración Se±SD		
	Valor certificado	Valor obtenido	R (%)
TM-24 ^a	4.0±1.7	2.40±0.01	60±0.2
CASS-3 ^a	0.020±0.005	-	-
GBW07401 ^b	0.14±0.04	0.09±0.01	62±7.1
1632c ^b	1.326±0.071	0.88±0.01	66±0.7
1633a ^b	10.3±0.6	10.40±0.06	101±0.6

^aConcentración en µg L⁻¹

^bConcentración en µg g⁻¹

En la **Tabla 34** se observan valores de recuperación bajos para el Se en los materiales estudiados excepto en la ceniza 1633a, posiblemente debido a que parte se encuentre como Se(VI).

No se estudió la exactitud para el Te, debido a que solamente se encontraron dos materiales de referencia con valores indicativos de Te (0.047 y $0.05 \mu\text{g g}^{-1}$), los cuales están muy próximos al límite de detección obtenido para dicho metal ($0.02 \mu\text{g g}^{-1}$).

4. OPTIMIZACIÓN DE UN MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE As(III)

Como se ha visto en el apartado anterior, cuando se utilizan concentraciones altas de ácido para generar el hidruro, no sólo el As(III) se reduce, sino que, además, se consigue la completa reducción de la especie As(V), por lo que es posible determinar el As inorgánico total [36].

La diferenciación en las distintas especies de arsénico inorgánico (As(III) y As(V)) se puede realizar controlando el pH al que tiene lugar la reacción de reducción. Así, para generar arsina a partir de As(V) se requieren disoluciones fuertemente ácidas ($\text{pH} < 1$), mientras que para el As(III) la formación del hidruro ocurre en disoluciones a pH superior a 5 [37-39].

Debido a este diferente comportamiento entre las distintas especies de arsénico inorgánico es posible generar arsina a partir del As(III) contenido en una muestra a un pH dado y posteriormente reducir el As(V) de la misma a As(III) utilizando agentes reductores como KI [40], tiosulfato [41] o mezclas KI-ácido ascórbico [41] y L-cisteína [42,43].

Para la generación de las distintas especies de arsénico también se usan medios selectivos como ácidos minerales (HCl , HNO_3 , H_2SO_4), ácidos orgánicos (oxálico, cítrico, tartárico), disoluciones tampón (ácido acético/acetato, ácido cítrico/citrato) [44] o agentes redox (yoduro potásico, amoníaco/cloruro de amonio, tiourea, permanganato potásico) [45] que permiten reducir selectivamente unas especies en presencia de otras.

Durante la última década, se han acoplado distintas técnicas de separación cromatográfica como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) [46] y cromatografía de gases (GC) [43] para separar las distintas especies orgánica e

inorgánica de arsénico previa a la generación del hidruro y su posterior determinación por absorción (AAS) [47] o emisión (AES) [48].

En este apartado, se optimiza un método de determinación de As(III) en presencia de As(V) empleando concentraciones bajas de ácido y NaBH_4 .

4.1. IDENTIFICACIÓN Y OPTIMIZACIÓN DE LAS VARIABLES SIGNIFICATIVAS

Se optimizan las condiciones de generación mediante diseños factoriales de Plackett-Burman para decidir las variables que son significativas, y se utiliza un diseño composicional para optimizar dichas variables.

Dicho estudio se realiza con $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) y utilizando una ganancia del detector de 100.

La **Tabla 36** recoge las variables que se han considerado en el estudio, así como los dos niveles elegidos, seleccionados a partir de posibles limitaciones instrumentales y datos bibliográficos consultados.

Tabla 36. Variables seleccionadas para el diseño experimental de la determinación de As(III)

Código	Variable	Bajo(-)	Alto(+)
A	Concentración HCl/M	1.5	3
B	Concentración $\text{NaBH}_4/\%(\text{m/v})$	0.7	1
C	Caudal $\text{NaBH}_4/\text{mL min}^{-1}$	5	10
D	Tiempo demora/s	10	20
E	Tiempo análisis/s	20	50
F	Tiempo memoria/s	40	70
G	Variable fantasma	-	+
H	Variable fantasma	-	+

A continuación se llevan a cabo todas las experiencias del diseño de acuerdo a la matriz correspondiente (**Tabla 3**) y se obtienen los resultados que se recogen en la **Tabla 37**.

Tabla 37. Resultados del diseño experimental

Experiencia	Intensidad
1	372.45
2	366.20
3	322.80
4	357.55
5	378.05
6	360.90
7	304.90
8	331.90
9	174.80
10	216.05
11	301.00
12	153.10

Una vez obtenida la variable respuesta para cada caso (intensidad de fluorescencia), sus valores se introducen en el diseño Plackett-Burman elegido y obtendremos la información necesaria para evaluar la importancia de cada una de las variables.

El diseño utilizado para la generación de los hidruros fue un Plackett-Burman $2^8 \times 3/64$ con 3 grados de libertad que conlleva la realización de 12 experiencias.

A continuación, se muestra la carta Pareto de primer orden para las variables objeto de estudio en la determinación de As(III) obtenidas utilizando el paquete estadístico Statgraphics Plus 4.0.

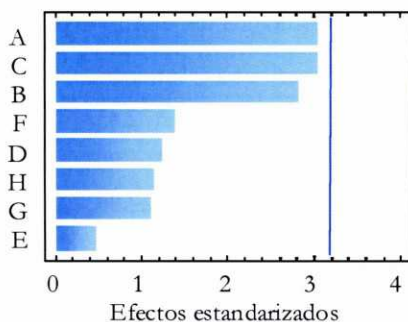


Figura 20. Carta Pareto de primer orden para la determinación de As(III)

En el análisis de esta carta, obtenemos también información sobre los efectos de cada variable, así como el valor de la $t_{\text{experimental}}$ para cada una de ellas (**Tabla 38**).

Tabla 38. Efectos estimados de las variables

Variable	Efecto	$t_{\text{experimental}}$
A	77.1333	3.10
B	71.35	2.85
C	76.8667	3.10
D	31.2	1.25
E	-11.8	0.45
F	-34.9	1.40
G	28.15	1.10
H	29.15	1.15

Como se observa en la **Figura 20**, para el As(III) ninguna variable resultó significativa, ya que los efectos de las variables son bajos y no sobrepasaron el valor de $t_{\text{crítico}}$ (3.18).

Se estudian a continuación las interacciones de segundo orden entre variables (tomando las variables de tres en tres), eliminando para ello las que puedan enmascarar los resultados finales y llevarnos a tomar decisiones equivocadas.

A continuación, se muestran algunas de las interacciones estudiadas en las que se observan las variables significativas resultantes del estudio (**Figura 21**).

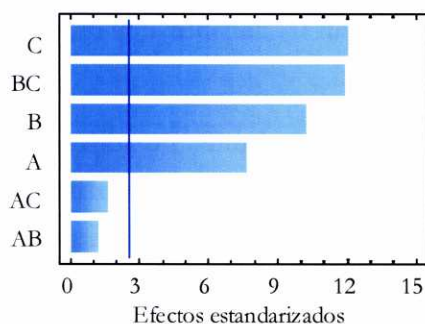


Figura 21. Cartas Pareto de segundo orden para la determinación de As(III)

Para la determinación de As(III) este estudio de interacciones revela las variables A, B y C (concentraciones de HCl y NaBH₄ y caudal de NaBH₄) como significativas.

Para las restantes variables, como su variación no provoca cambios relevantes en el sistema, se le fija el valor que creamos apropiado para nuestro estudio. Para ello se tendrá en cuenta el menor consumo de reactivos y tiempo de análisis total.

Según esto, los valores de las variables no significativas son (**Tabla 39**):

Tabla 39. Valores de las variables que no resultaron significativas

Código	Variable	Valor
D	Tiempo demora/s	20
E	Tiempo análisis/s	20
F	Tiempo memoria/s	40

A continuación, se optimizan las variables que resultaron significativas mediante un diseño composicional.

Dicho estudio se realiza mediante un diseño composicional 2^3 +star, estableciendo un intervalo de estudio para cada variable de la misma forma que se hizo a la hora de realizar el diseño de Plackett-Burman y con el paquete estadístico Statgraphics Plus 4.0.

Para la realización del diseño composicional, se establece el mismo intervalo de estudio para cada variable que el utilizado en el diseño de Plackett-Burman. De esta manera, en la **Tabla 40** se muestran las variables a optimizar, así como los valores altos y bajos para cada variable.

Tabla 40. Valores de las variables a optimizar para la determinación de As(III)

Código	Variable	Bajo(-)	Alto(+)
A	Concentración HCl/M	1.5	3
B	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	0.7	1
C	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	5	10

Con estos valores obtenemos la matriz del diseño composicional 2^3 +star, la cual conlleva la realización de 16 experiencias (**Tabla 41**).

Tabla 41. Matriz del diseño composicional para la determinación de As(III)

Experiencia	Concentración HCl/M	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	Caudal NaBH ₄ / mL min ⁻¹
1	K ₀ ^a	K ₀ ^b	K ₀ ^c
2	-	-	-
3	+	-	-
4	-	-	+
5	+	-	+
6	-	+	-
7	+	+	-
8	-	+	+
9	+	+	+
10	-α ^d	K ₀ ^b	K ₀ ^c
11	+α ^e	K ₀ ^b	K ₀ ^c
12	K ₀ ^a	K ₀ ^b	-α ^h
13	K ₀ ^a	K ₀ ^b	+α ⁱ
14	K ₀ ^a	-α ^f	K ₀ ^c
15	K ₀ ^a	+α ^g	K ₀ ^c
16	K ₀ ^a	K ₀ ^b	K ₀ ^c

^aK₀=2.25

^bK₀=0.85

^cK₀=7.5

^d-α=0.988655

^e+α=3.51134

^f-α=0.597731

^g+α=1.10227

^h-α=3.29552

ⁱ+α=11.7045

El diseño composicional se realiza por duplicado, así, para la generación del hidruro de As se realizará un composicional 2³+star, el cual, duplicado, conlleva la realización de 32 experiencias.

Dichas experiencias se realizan con la misma concentración de As(III) utilizada en el estudio de identificación de las variables significativas ($5 \mu\text{g L}^{-1}$).

Una vez realizados los experimentos de acuerdo con la correspondiente matriz se obtienen los siguientes resultados (**Tabla 42**).

Tabla 42. Resultados del diseño composicional para la determinación de As(III)

Experiencia	Intensidad de fluorescencia
1	420.9
2	205.8
3	223.9
4	307.8
5	325.7
6	320.9
7	326.0
8	309.0
9	324.5
10	339.1
11	362.7
12	0
13	375.2
14	265.7
15	417.8
16	355.3
17	395.4
18	208.5
19	217.0
20	306.3
21	334.5
22	309.4
23	334.4
24	302.4
25	323.9
26	346.4
27	356.9
28	0
29	404.8
30	275.1
31	412.3
32	360.4

Una vez obtenidos estos datos, se introducen en el diseño composicional, el cual nos ayudará a obtener el óptimo para cada variable. A continuación, se muestran las superficies de respuesta y los contornos obtenidos en el estudio del diseño composicional para la determinación de As(III). Como se observa en la **Figura 22**, la intensidad de fluorescencia aumenta al incrementarse las tres variables, lo que era esperado, ya que dichas variables (A, B y C) afectan positivamente al sistema como hemos visto anteriormente. Esto es así hasta que se alcanza un valor óptimo de las variables, manteniéndose constante el valor de la intensidad en el caso de la variable concentración de NaBH_4 (B) y disminuyendo dicha intensidad para las variables concentración de HCl y caudal de NaBH_4 (A y C).

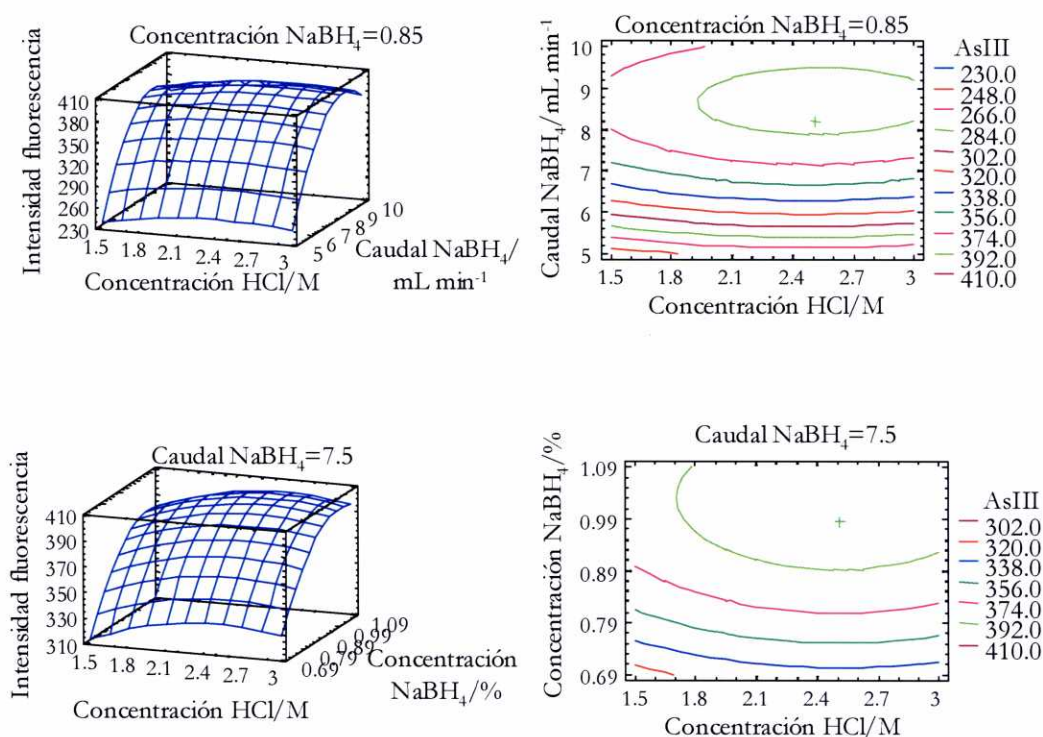


Figura 22. Superficies de respuesta y contornos obtenidos para la determinación de As(III) (continúa)

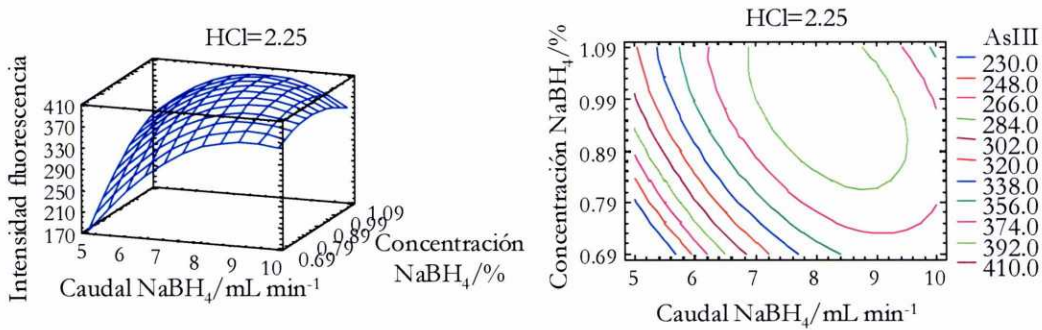


Figura 22. Superficies de respuesta y contornos obtenidos para la determinación de As(III) (continuación)

De esta manera, se obtienen los valores óptimos que se muestran en la **Tabla 43**.

Tabla 43. Valores óptimos para las variables significativas en la determinación de As(III)

Código	Variable	Valor óptimo
A	Concentración HCl/M	2.5
B	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	1
C	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	8.2

Finalmente, las condiciones óptimas seleccionadas para la determinación de As (III) mediante HG-AFS se muestran a continuación.

Tabla 44. Valores óptimos para la determinación de As(III)

Código	Variable	As
A	Concentración HCl/M	2.5
B	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	1.0
C	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	8.2
D	Tiempo demora/s	20
E	Tiempo análisis/s	20
F	Tiempo memoria/s	40

En estas condiciones se comprueba que solo se reduce un pequeño porcentaje (25%) del As(V), quedando por lo tanto optimizado un método para determinar As(III) mediante HG-AFS.

4.2. CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DEL MÉTODO

En el presente apartado, se pretende evaluar el posible efecto de la matriz en el método de determinación de As(III) desarrollado anteriormente, así como la sensibilidad, precisión y exactitud de dicho método.

A continuación se muestran las **rectas de calibrado y adición** obtenidas para la determinación de As(III) mediante HG-AFS.

Las rectas de calibrado fueron preparadas con concentraciones de 0, 100, 200 y 300 ng L⁻¹ de As(III), mientras que en las rectas de adición se adicionaron volúmenes adecuados de disolución patrón de As(III) (para obtener concentraciones de 0, 100, 200 y 300 ng L⁻¹) a 5 mL de agua de mar y 2 mL de agua termal con el objetivo de determinar el posible efecto matriz, diluyendo hasta un volumen final de 25 mL. En todos los casos el estudio se realizó utilizando una ganancia de 100, debido a que con la máxima ganancia que permite el detector (1000) se observa una saturación de la intensidad debida a la señal que producen los reactivos. Los resultados se muestran en las **Tabla 45** y **Figura 23**.

Tabla 45. Rectas de calibrado y adición para el As(III)

	As
Calibrado acuoso	$I=31.2+0.82[As]$
Adición mar	$I=67.3+0.32[As]$
Adición termal	$I=83.6+0.61[As]$

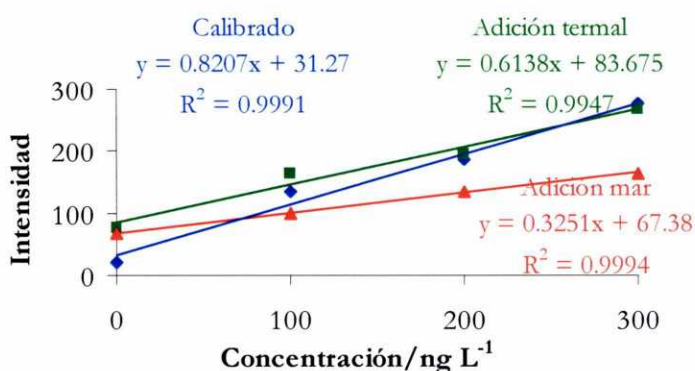


Figura 23. Rectas de calibrado y adición para el As(III)

En la **Figura 23**, se observa efecto matriz en el caso del agua de mar, haciéndose necesario aplicar el método de adiciones estándar para la determinación de As(III) en dicha matriz. Este hecho se comprueba estadísticamente tras la realización de un test t de comparación de la similitud entre las varianzas y pendientes de dos líneas de regresión, no encontrándose diferencias significativas al 95% de confianza entra la pendiente de la recta de calibrado y la adición termal, y sí con la pendiente de la recta de adición del agua de mar.

La sensibilidad del método desarrollado, se estudió a partir de dos parámetros: **límites de detección (LOD)** y **límites de cuantificación (LOQ)**. Los resultados obtenidos muestran un LOD=15 ng L⁻¹ y un LOQ=51 ng L⁻¹.

La **precisión** del método se estudió con una muestra de agua de mar y otra de agua termal, midiéndose once veces cada nivel de concentración.

Los resultados expresados como *RSD* se muestran a continuación:

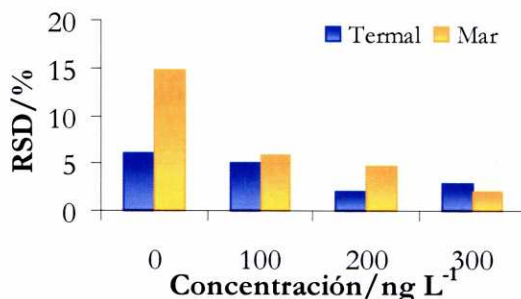


Figura 24. Desviación estándar relativa para el As(III)

Como puede observarse, la precisión obtenida es aceptable para todas las concentraciones de analito estudiadas.

La **exactitud** del método fue estudiada utilizando para ello distintos materiales de referencia, tanto acuosos como sólidos.

Se estudiaron dos materiales de referencia acuosos (TM-24 y CASS-3, *Nearshore Seawater reference Material for Trace Metals*), así como un material de carbón (SRM 1632c, *Trace Elements in Coal (Bituminous)*), un suelo (CRM GBW07401 del *National Research Council of Reference Materials, China*) y un material de ceniza (SRM 1633a, *Trace Elements in Coal Fly Ash*), realizándose 11 medidas de cada material.

En la **Tabla 46** se muestran dichos resultados, así como las recuperaciones obtenidas (valor obtenido/valor certificado).

Tabla 46. Exactitud del método de determinación de As(III) (n=11)

	Concentración As±SD		
	Valor certificado	Valor obtenido	R (%)
TM-24 ^a	2.7±1	2.27±0.04	84±1.5
CASS-3 ^a	1.09±0.07	1.04±0.03	95±2.7
GBW07401 ^b	34±5	28.80±0.14	84±0.4
1632c ^b	6.18±0.27	4.92±0.11	80±1.8
1633a ^b	145±15	130.20±0.88	90±0.6

^aConcentración en µg L⁻¹

^bConcentración en µg g⁻¹

En general, las recuperaciones obtenidas son aceptables en todos los casos.

5. OPTIMIZACIÓN DE MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE As Y Sb INORGÁNICO TOTAL UTILIZANDO AGENTES REDUCTORES

En el presente apartado se desarrollan métodos analíticos para la determinación de As inorgánico total ($\text{As(III)} + \text{As(V)}$) y Sb inorgánico total ($\text{Sb(III)} + \text{Sb(V)}$) mediante HG-AFS utilizando un agente reductor con el fin de reducir las especies As(V) y Sb(V) .

Se optimizan las condiciones de generación mediante diseños factoriales de Plackett-Burman para obtener las variables que resultan significativas en el sistema, y se utiliza un diseño composicional para optimizar dichas variables.

5.1. DETERMINACIÓN DE AS INORGÁNICO TOTAL

La utilización de agentes reductores en la determinación de As mediante distintas técnicas analíticas se encuentra ampliamente documentada en la bibliografía [36].

Distintos agentes reductores han sido propuestos para la determinación de As. Así, diversos autores sugieren la L-cysteina para determinar As en muestras de agua mediante ICP-MS [49], en sedimentos marinos mediante ICP-AES [50] y en muestras de agua o sangre mediante AAS [42,51-53]. El KI ha sido también propuesto como agente reductor, utilizándolo tanto solo como mezclado con tiourea o ácido ascórbico para determinar As en muestras de aguas, sedimentos de río, aleaciones, agua de bebida o pescado [40,54-59]. Finalmente, para la determinación de As mediante AFS han sido propuestos tanto la L-cysteina como el KI, obteniéndose con este último mejores resultados en muestras de aguas naturales, cerveza y agua de bebida [8,21,60].

A continuación se muestra una tabla en la que se resumen los principales agentes reductores utilizados para la determinación de As reflejados en la bibliografía.

Tabla 47. Agentes reductores utilizados para la determinación de As

Agente Reductor	Técnica	Concentración	Matriz	Referencia
L-cysteina	ICP-MS	-	Agua	[49]
L-cysteina	ICP-AES	-	Sedimento marino	[50]
L-cysteina	AAS	-	Agua	[51]
L-cysteina	AAS	-	Sangre	[53]
L-cysteina	AAS	-	Acero	[42]
L-cysteina	AAS	-	-	[52]
L-cysteina	AFS	1%(m/v)	Aguas naturales	[60]
KI	AAS	30%(m/v)	Aleación	[55]
KI	AAS	-	Pescado	[56]
KI	AAS	-	Agua de bebida	[45]
KI	AAS	-	Suelo, vegetación, agua, sedimentos, desechos industriales	[59]
KI	AFS	1%(m/v)	Cerveza	[8]
KI	AFS	-	Agua de bebida	[21]
KI o L-cysteina	AAS	-	-	[57]
KI+ácido ascórbico	AAS	15%(m/v)+5%(m/v)	Orina	[58]
KI+ácido ascórbico	AAS	1%(m/v)+0.5%(m/v)	Agua de bebida	[40]
KI+ácido ascórbico	AAS	-	Aguas y sedimentos	[54]

La utilización de L-Cysteina frente al KI para la determinación de As mediante AAS presenta algunas ventajas como son las bajas concentraciones de ácido requeridas [53], sin embargo, cuando se utiliza la técnica de AFS, la bibliografía consultada recomienda el KI como agente reductor (**Tabla 47**). Por todo lo anterior, seleccionamos el KI como agente reductor para el estudio que se desarrolla a continuación.

En el presente apartado se optimiza un método de determinación de As inorgánico total utilizando KI para reducir la especie As(V) a As(III).

Dicho estudio se lleva a cabo en el espectrofotómetro de fluorescencia atómica Millenium Excalibur PSA 10.055 (PS Analytical) con llama de difusión de hidrógeno utilizado hasta ahora en este trabajo (**Figura 1**).

En la **Figura 25**, se muestra el esquema del sistema de inyección de vapor en continuo utilizado. El KI es bombeado hacia un bucle de reducción previa, donde reaccionará con la muestra produciéndose el paso de As(V) a As(III). La disolución resultante es mezclada con el ácido clorhídrico y el agente reductor (NaBH_4) utilizados para generar el hidruro de As, el cual es arrastrado por una corriente de Ar hasta la llama de difusión de hidrógeno donde será atomizado, pasando previamente por el sistema de secado Perma Pure.

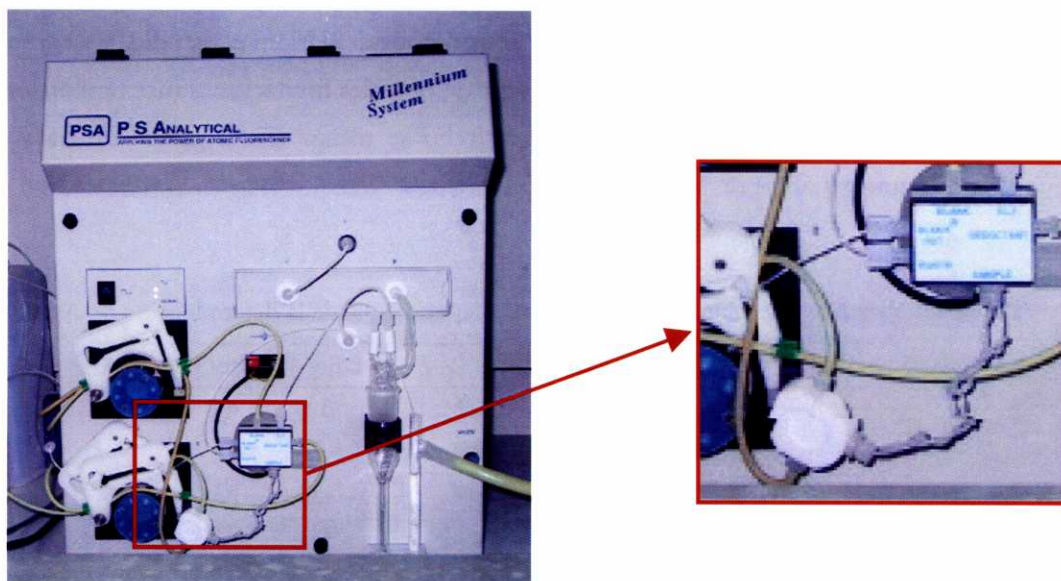


Figura 25. Esquema del sistema en flujo continuo utilizando reductor

Este método se compara con el desarrollado en el capítulo anterior en el que no se utiliza ningún agente reductor previo.

5.1.1. Identificación y optimización de las variables significativas

A la hora de plantear el diseño de experiencias es necesario tener en cuenta, además de las variables estudiadas hasta ahora, la concentración y el caudal de KI y la longitud del bucle de reducción previa, puesto que estas variables serán críticas a la hora de reducir el As(V) a As(III).

Según esto tendremos nueve variables a optimizar, con lo cual realizamos un diseño factorial de Plackett-Burman $2^9 \cdot 3/128$ con 3 grados de libertad, el cual conlleva la realización de 12 experiencias.

La **Tabla 48** recoge las variables que se han considerado en el estudio, así como los dos niveles elegidos, seleccionados a partir de posibles limitaciones instrumentales y datos bibliográficos consultados. Dicho estudio se realiza con $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V) utilizando una ganancia de 10 en el detector.

Tabla 48. Variables seleccionadas para el diseño experimental de la determinación de As(V)

Código	Variable	Bajo(-)	Alto(+)
A	Concentración HCl/M	3	4.8
B	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	0.7	1
C	Concentración KI/M	0.5	2
D	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	4	10
E	Caudal KI/mL min ⁻¹	4	10
F	Tiempo demora/s	10	20
G	Tiempo análisis/s	20	50
H	Tiempo memoria/s	40	70
I	Longitud bucle reducción/cm	50	200

La matriz resultante del diseño experimental planteado se muestra en la **Tabla 49**.

Tabla 49. Matriz de diseño experimental resultante de las condiciones seleccionadas para la determinación de As(V)

Experiencia	Variables								
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	+	-	+	-	-	-	+	+	+
2	+	+	-	+	-	-	-	+	+
3	-	+	+	-	+	-	-	-	+
4	+	-	+	+	-	+	-	-	-
5	+	+	-	+	+	-	+	-	-
6	+	+	+	-	+	+	-	+	-
7	-	+	+	+	-	+	+	-	+
8	-	-	+	+	+	-	+	+	-
9	-	-	-	+	+	+	-	+	+
10	+	-	-	-	+	+	+	-	+
11	-	+	-	-	-	+	+	+	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A continuación se llevan a cabo todas las experiencias del diseño de acuerdo a la matriz correspondiente y se obtienen los resultados que se recogen en la **Tabla 50**.

Una vez obtenida la respuesta para cada caso (intensidad de fluorescencia), se aplica el diseño Plackett-Burman elegido, obteniendo a continuación la información necesaria para evaluar la importancia de cada una de las variables.

Tabla 50. Resultados de los diseños experimentales

Experiencia	Intensidad fluorescencia
1	69.20
2	127.50
3	75.05
4	118.05
5	83.60
6	96.10
7	86.00
8	107.75
9	49.55
10	19.50
11	62.45
12	11.55

Este análisis se realiza con ayuda de las cartas Pareto. A continuación se muestra la carta Pareto de primer orden para las variables objeto de estudio en la generación del hidruro de As.

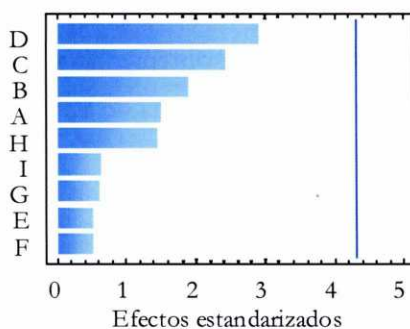


Figura 26. Carta Pareto de primer orden para la determinación de As(V)

En el análisis de estas cartas, obtenemos también información sobre los efectos de cada variable, así como el valor de la $t_{\text{experimental}}$ para cada una de ellas (**Tabla 51**).

Tabla 51. Efectos estimados de las variables

Variable	Efecto	$t_{\text{experimental}}$
A	20.2667	1.50
B	25.85	1.90
C	33.0	2.40
D	39.7667	2.90
E	-7.2	0.55
F	-7.16667	0.55
G	-8.21667	0.60
H	19.8	1.45
I	-8.78333	0.65

Como se observa en la **Figura 26**, para el As(V) ninguna variable resultó significativa, ya que los efectos de las variables son bajos y no sobrepasaron el valor de $t_{\text{crítico}}$ (4.30).

A continuación, se estudian las interacciones de segundo orden entre variables (**Figura 27**).

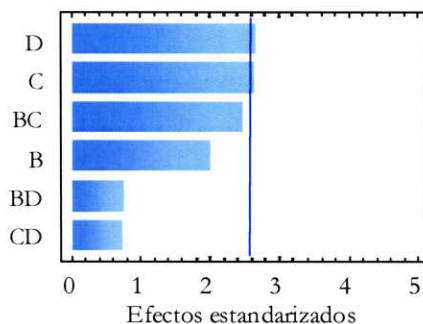


Figura 27. Cartas Pareto de segundo orden para la determinación de As(V)

Para la generación del hidruro de As el estudio de interacciones de segundo orden revela las variables C y D (concentración de KI y caudal de NaBH_4) como significativas.

Para las restantes variables, como su variación no provoca cambios relevantes en el sistema, se fija el valor que creamos apropiado para nuestro estudio. Según esto, los valores de las variables no significativas se muestran a continuación (**Tabla 52**).

Tabla 52. Valores de las variables que no resultaron significativas

Código	Variable	Valor
A	Concentración HCl/M	4.8
B	Concentración $\text{NaBH}_4/\%(\text{m}/\text{v})$	1
E	Caudal $\text{KI}/\text{mL min}^{-1}$	4
F	Tiempo demora/s	10
G	Tiempo análisis/s	20
H	Tiempo memoria/s	70
I	L bucle reducción	50

A continuación, se optimizan las variables que resultaron significativas mediante un diseño compositacional $2^2 + \text{star}$ estableciendo un intervalo de estudio para cada variable de la misma forma que se hizo a la hora de realizar el diseño de Plackett-Burman.

De esta manera, en la **Tabla 53** se muestran las variables a optimizar, así como los valores altos y bajos para cada variable. El intervalo de estudio para cada variable es el mismo que el utilizado en el diseño de Plackett-Burman.

Tabla 53. Valores de las variables a optimizar para la determinación de As(V)

Código	Variable	Bajo(-)	Alto(+)
C	Concentración KI/M	0.5	2
D	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	4	10

Con estos valores obtenemos la matriz del diseño compositonal 2²+star, la cual conlleva la realización de 10 experiencias (Tabla 54).

Tabla 54. Matriz del diseño compositonal para la determinación de As(V)

Experiencia	Concentración KI/M	Caudal NaBH ₄ / mL min ⁻¹
1	K ₀ ^a	K ₀ ^b
2	-	-
3	+	-
4	-	+
5	+	+
6	-α ^c	K ₀ ^b
7	+α ^d	K ₀ ^b
8	K ₀ ^a	-α ^e
9	K ₀ ^a	+α ^f
10	K ₀ ^a	K ₀ ^b

^aK₀=1.25

^bK₀=7.0

^c-α=0.18934

^d+α=2.31066

^e-α=2.75736

^f+α=11.2426

El estudio del diseño por duplicado implica realizar 20 experiencias. Dichas experiencias se llevan a cabo con la misma concentración de As(V) utilizada en el estudio de identificación de las variables significativas ($5 \mu\text{g L}^{-1}$).

Una vez realizados los experimentos de acuerdo con la correspondiente matriz se obtienen los siguientes resultados (**Tabla 55**).

Tabla 55. Resultados del diseño composicional para la determinación de As(V)

Experiencia	Intensidad de fluorescencia
1	146.4
2	84.3
3	106.5
4	76.3
5	94.4
6	123.0
7	131.8
8	0
9	114.8
10	169
11	146.6
12	83.1
13	106.5
14	82.05
15	69.5
16	121.4
17	129.7
18	0
19	105.8
20	160.5

Como se observa en la **Tabla 55**, la experiencia 8 no nos proporciona información, debido a que el caudal de NaBH_4 que nos sugiere el diseño es demasiado bajo y la llama de difusión de hidrógeno no llega a encenderse.

Una vez obtenidos estos datos, se aplica el diseño composicional el cual nos ayudará a obtener el óptimo para cada variable. A continuación se muestran las superficies de respuesta y los contornos obtenidos para el estudio del diseño composicional en la determinación de As(V) (**Figura 28**).

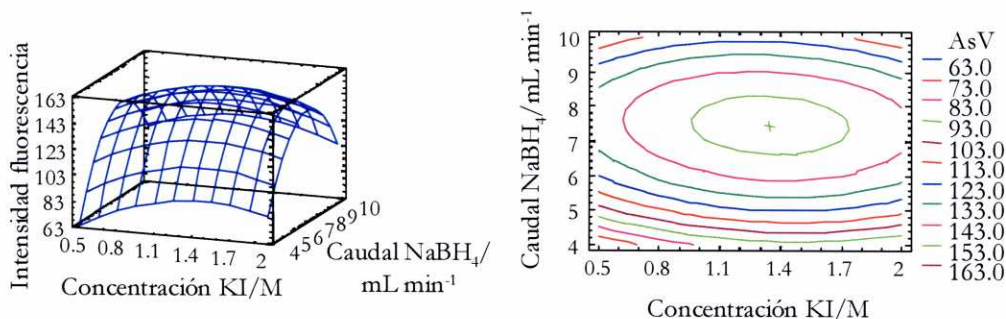


Figura 28. Superficie de respuesta y contorno obtenidos para la determinación de As(V)

Como se observa en la **Figura 28**, la intensidad de fluorescencia aumenta al incrementarse las dos variables hasta que se alcanza un valor óptimo, disminuyendo a continuación dicha intensidad.

De esta manera, se obtienen los valores óptimos que se muestran en la **Tabla 56**.

Tabla 56. Valores óptimos para las variables significativas en la determinación de As(V)

Código	Variable	Valor óptimo
C	Concentración KI/M	1.3
D	Caudal $\text{NaBH}_4/\text{mL min}^{-1}$	7.5

Finalmente, las condiciones óptimas seleccionadas para la determinación de As(V) mediante HG-AFS se muestran a continuación.

Tabla 57. Valores óptimos para la determinación de As(V)

Código	Variable	As
A	Concentración HCl/M	4.8
B	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	1
C	Concentración KI/M	1.3
D	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	7.5
E	Caudal KI/mL min ⁻¹	4
F	Tiempo demora/s	10
G	Tiempo análisis/s	20
H	Tiempo memoria/s	70
I	L Bucle reducción/mL min ⁻¹	50

En estas condiciones, la señal de intensidad de fluorescencia de patrones idénticos de As(III) es del mismo orden que la señal debida a los patrones de As(V). De esta forma podemos concluir que en las condiciones optimizadas se consigue la completa reducción del As(V).

5.1.2. Características analíticas del método

A continuación se muestran las **rectas de calibrado y adición** obtenidas para la determinación As inorgánico total mediante HG-AFS.

Las rectas de calibrado fueron preparadas con concentraciones de 0, 200, 400 y 600 ng L⁻¹ de As(V), mientras que en las rectas de adición se adicionaron volúmenes de disolución patrón de As(V) (para obtener concentraciones de 0, 200, 400 y 600 ng L⁻¹) a 5 mL de agua de mar y 2 mL de agua termal para determinar el posible efecto matriz, utilizando en todos los casos una ganancia de 100 y llevando la disolución a un volumen final de 50 mL. Los resultados se muestran en las **Tabla 58 y Figura 29**.

Tabla 58. Rectas de calibrado y adición para la determinación de As inorgánico total

As	
Calibrado acuoso	$I = -8.0 + 0.14[As]$
Adición mar	$I = 20.2 + 0.08[As]$
Adición termal	$I = 28.5 + 0.27[As]$

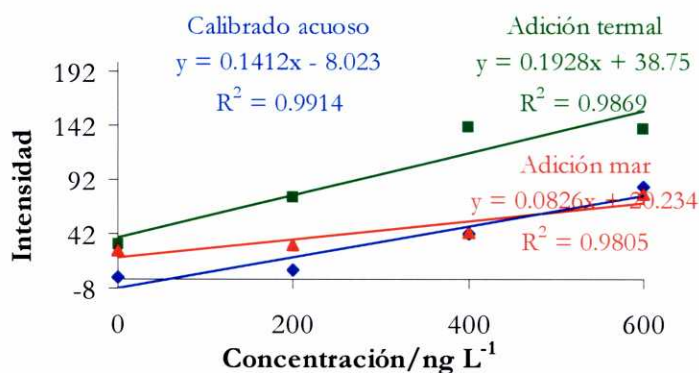


Figura 29. Rectas de calibrado y adición para la determinación de As inorgánico total

Una vez realizado un test t para comparar el paralelismo de las pendientes de las rectas de calibrado y adición, se comprobó que no difieren para un nivel de confianza del 95%.

En la **Figura 29**, se observa la presencia de efecto matriz en el caso del agua de mar, haciéndose necesario el método de adiciones estándar para la determinación de As inorgánico total en dicha matriz.

La sensibilidad del método desarrollado, se estudió a partir de dos parámetros: **límites de detección (LOD)** y **límites de cuantificación (LOQ)**. Los resultados obtenidos muestran un LOD=47 ng L⁻¹ y un LOQ=157 ng L⁻¹.

La **precisión** del método se estudió con una muestra de agua de mar y otra de agua termal, midiéndose once veces cada nivel de concentración.

Los resultados expresados como *RSD* se muestran a continuación:

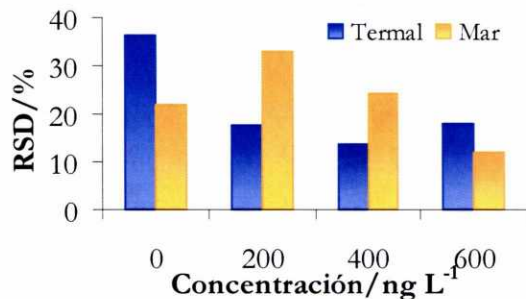


Figura 30. Desviación estándar relativa para la determinación de As inorgánico total

Como puede observarse, la precisión obtenida para este método es mala en todas las concentraciones estudiadas.

La **exactitud** del método fue estudiada utilizando para ello distintos materiales de referencia, tanto acuosos como sólidos.

Se estudiaron dos materiales de referencia acuosos (TM-24 y CASS-3, *Nearshore Seawater reference Material for Trace Metals*), así como un material de carbón (SRM 1632c, *Trace Elements in Coal (Bituminous)*), un suelo (CRM GBW07401 del *National Research council of Reference Materials, China*) y un material de ceniza (SRM 1633a, *Trace Elements in Coal Fly Ash*) realizándose 11 medidas de cada material.

En la **Tabla 59** se muestran dichos resultados, así como las recuperaciones obtenidas. Como se puede observar las recuperaciones no son buenas, encontrándose en este caso peores recuperaciones que las obtenidas con el método que no hace uso de reducción previa.

Tabla 59. Exactitud del método de determinación de As inorgánico total (n=11)

	Concentración As±SD		
	Valor certificado	Valor obtenido	R (%)
TM-24 ^a	2.7±1	1.42±0.03	52±1.1
CASS-3 ^a	1.09±0.07	0.58±0.02	53±1.8
GBW07401 ^b	34±5	29.25±0.25	86±0.7
1632c ^b	6.18±0.27	5.54±0.20	89±3.2
1633a ^b	145±15	126.60±1.34	87±0.9

^aConcentración en µg L⁻¹

^bConcentración en µg g⁻¹

A la vista de los resultados anteriores, se propone el primer método desarrollado para la determinación de As inorgánico total, debido a que ofrece mejores límites de detección y cuantificación, es más preciso y la exactitud obtenida para los materiales de referencia estudiados es mejor que con este último método utilizando un agente reductor.

Los malos resultados obtenidos con este método de determinación de As utilizando KI como agente reductor pueden deberse a las altas concentraciones y caudales de ácido clorhídrico y borohidruro sódico utilizadas, lo cual unido al caudal extra que aporta el KI, generan una llama inestable que dificulta la medida obteniéndose una mala precisión, que origina un empeoramiento de la sensibilidad y la exactitud.

5.2. DETERMINACIÓN DE Sb INORGÁNICO TOTAL

La bibliografía consultada referente a la determinación de Sb utilizando agentes reductores, revela el KI como agente reductor más eficaz. Así, dicho reductor se utiliza para determinar Sb por distintas técnicas analíticas, como AAS o AFS en muestras de agua de bebida [21,36]. La mezcla de KI y ácido ascórbico también ha sido propuesta por [54] para la determinación de Sb en agua mediante AAS. Otros

reductores como la L-cysteina o la tiourea han sido utilizados para la determinación de Sb en agua, sedimentos marinos, aguas residuales, suelos y vegetales por AFS-ETAAS, ICP-MS, ICP-AES o AAS [22,42,50,61,62].

A continuación se muestra un resumen de los agentes reductores propuestos en la bibliografía para la determinación de Sb.

Tabla 60. Agentes reductores para la determinación de Sb

Agente Reductor	Técnica	Matriz	Referencia
KI	AAS	Agua	[36]
KI	AFS	Agua de bebida	[21]
KI o L-cysteina	AFS-ETAAS	Suelos y vegetales	[22]
KI+ácido ascórbico	AAS	Sedimentos	[54]
L-cysteina	AAS	-	[42]
L-cysteina	ICP-MS	Agua de río	[61]
L-cysteina	ICP-AES	Sedimentos marinos	[50]
Tiourea	ICP-AES	Aguas residuales	[62]

Como se observa en la **Tabla 60**, la mayoría de los autores consultados en la bibliografía proponen el KI como agente reductor más eficaz para la determinación de Sb mediante técnicas de espectroscopía atómica, por lo que se eligió dicho reductor para la realización del presente estudio.

A continuación, se optimiza un método de determinación de Sb inorgánico total utilizando KI para reducir la especie Sb(V) a Sb(III).

5.2.1. Identificación y optimización de las variables significativas

Para la identificación de las variables que resultan significativas se realiza un diseño factorial de Plackett-Burman $2^9 \times 3/128$, el cual conlleva la realización de 12 experiencias.

La **Tabla 61** recoge las variables que se han considerado en el estudio, así como los dos niveles elegidos, seleccionados a partir de posibles limitaciones instrumentales y datos bibliográficos consultados. Dicho estudio se realiza con $4 \mu\text{g L}^{-1}$ de Sb(V) utilizando una ganancia de 100 en el detector.

Tabla 61 Variables seleccionadas para el diseño experimental de la generación de Sb(V)

Código	Variable	Bajo(-)	Alto(+)
A	Concentración HCl/M	3	4.8
B	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	0.7	1
C	Concentración KI/M	0.5	2
D	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	4	10
E	Caudal KI/mL min ⁻¹	4	10
F	Tiempo demora/s	10	20
G	Tiempo análisis/s	20	50
H	Tiempo memoria/s	40	70
I	Longitud bucle reducción/cm	50	200

A continuación se llevan a cabo todas las experiencias del diseño de acuerdo a la matriz correspondiente (**Tabla 48**) y se obtienen los resultados que se recogen en la **Tabla 62**.

Tabla 62. Resultados de los diseños experimentales

Experiencia	Intensidad fluorescencia
1	285.1
2	166.1
3	500.4
4	516.4
5	337.9
6	572.7
7	339.4
8	454.1
9	427.5
10	275.6
11	488.8
12	256.9

Una vez obtenida la respuesta para cada caso (intensidad de fluorescencia), y aplicado el diseño Plackett-Burman elegido, obtendremos la información necesaria para evaluar la importancia de cada una de las variables.

Este análisis se realiza con ayuda de las cartas Pareto. A continuación se muestra la carta Pareto de primer orden para las variables objeto de estudio en la generación del hidruro de Sb (V).

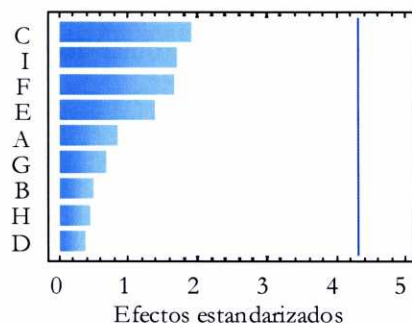


Figura 31. Carta Pareto de primer orden para la determinación de Sb (V)

En el análisis de estas cartas, obtenemos también información sobre los efectos de cada variable, así como el valor de la $t_{\text{experimental}}$ para cada una de ellas (**Tabla 63**).

Tabla 63. Efectos estimados de las variables

Variable	Efecto	$t_{\text{experimental}}$
A	-52.2167	0.85
B	31.6167	0.50
C	119.217	1.90
D	-23.0167	0.38
E	85.9167	1.40
F	103.317	1.65
G	-43.1833	0.70
H	27.95	0.45
I	-105.45	1.70

Como se observa en la **Figura 31**, para el Sb(V) ninguna variable resultó significativa, ya que los efectos de las variables son bajos y no sobrepasaron el valor de $t_{\text{crítico}}$. (4.30).

Se estudian a continuación las interacciones de segundo orden entre variables (tomando las variables de tres en tres), eliminando para ello las que puedan enmascarar los resultados finales y llevarnos a tomar decisiones equivocadas.

A continuación, se muestran algunas de las interacciones estudiadas en las que se observan las variables significativas resultantes del estudio (**Figura 32**).

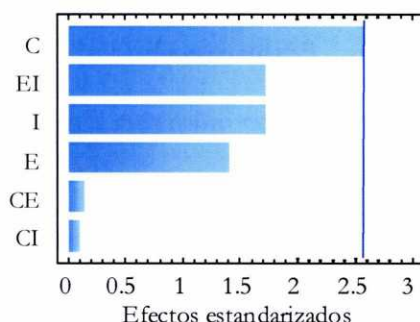


Figura 32. Cartas Pareto de segundo orden para la determinación de Sb(V)

Como se observa en la **Figura 32** solamente resulta significativa la variable C (concentración de KI), la cual se optimizará de manera univariante, debido a que resulta inviable la utilización de un diseño composicional para optimizar una sola variable.

Para la optimización de dicha variable, se investigan distintas concentraciones de KI desde 0 M hasta 3.0 M manteniendo constantes las demás variables que influyen en la generación. Para el resto de las variables se tomaron como valores óptimos los que se muestran en la **Tabla 64**.

Tabla 64. Condiciones fijadas en el estudio univariante de la variable C

Código	Variable	Valor
A	Concentración HCl/M	3
B	Concentración NaBH ₄ /%(m/v)	1
D	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	4
E	Caudal KI/mL min ⁻¹	10
F	Tiempo demora/s	20
G	Tiempo análisis/s	20
H	Tiempo memoria/s	70
I	Longitud bucle reducción/cm	50

Este estudio se realiza utilizando ganancia 100 en el detector y 4 µg L⁻¹ de Sb(V), es decir, las mismas condiciones utilizadas en el diseño factorial de Plackett-Burman.

Los resultados se muestran a continuación (**Figura 33**).

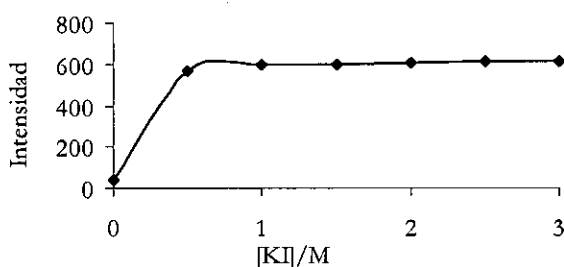


Figura 33. Optimización univariante de la variable concentración de KI

A la vista de los resultados, se obtiene una concentración óptima de KI de 1M, observándose para valores mayores de KI un valor constante de la intensidad de fluorescencia.

Finalmente, las condiciones óptimas seleccionadas para la determinación de Sb(V) mediante HG-AFS se muestran a continuación.

Tabla 65. Valores óptimos para la determinación de Sb(V)

Código	Variable	Valor
A	Concentración HCl/M	3
B	Concentración NaBH ₄ /%	1
C	Concentración KI/M	1
D	Caudal NaBH ₄ /mL min ⁻¹	4
E	Caudal KI/mL min ⁻¹	10
F	Tiempo demora/s	20
G	Tiempo análisis/s	20
H	Tiempo memoria/s	70
I	Longitud bucle reducción/cm	50

Se ha comprobado que con las condiciones optimizadas, se reduce totalmente el Sb(V), por lo que tenemos un método de determinación de Sb inorgánico total. En estas condiciones, conseguimos también la reducción del Sb(III).

5.2.2. Características analíticas de los métodos

A continuación se muestran las **rectas de calibrado y adición** obtenidas para la determinación de Sb inorgánico total mediante HG-AFS.

Las rectas de calibrado fueron preparadas con concentraciones de 0, 2, 4 y 6 µg L⁻¹ de Sb(V), mientras que en las rectas de adición se adicionaron volúmenes de disolución patrón de Sb (para obtener concentraciones de 0, 2, 4 y 6 µg L⁻¹) a 5 mL de agua termal y 2 mL de agua de mar para determinar el posible efecto matriz, utilizando en todos los casos una ganancia de 100 y un volumen final de 50 mL. Los resultados se muestran en las **Tabla 66** y **Figura 34**.

Tabla 66. Rectas de calibrado y adición para la determinación de Sb inorgánico total

Sb	
Calibrado acuoso	$I=2.34+135.3[Sb]$
Adición mar	$I=18.22+146.4[Sb]$
Adición termal	$I=42.38+131.3[Sb]$

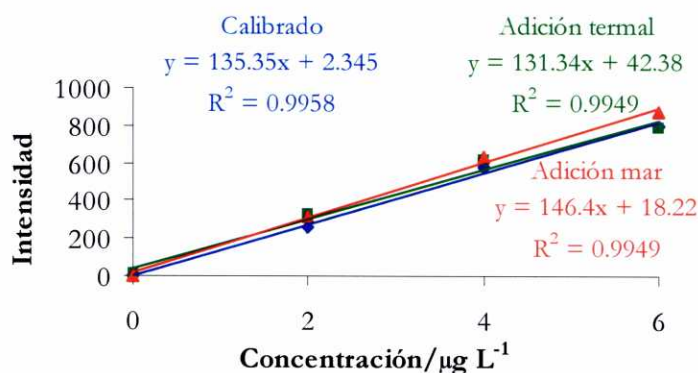


Figura 34. Rectas de calibrado y adición para la determinación de Sb inorgánico total

Las pendientes de calibrado y adición no difieren significativamente al 95% de confianza, por lo que ambas rectas se consideran paralelas.

La sensibilidad del método desarrollado, se estudió a partir de dos parámetros: **límites de detección (LOD)** y **límites de cuantificación (LOQ)**. Los resultados obtenidos muestran un $LOD=0.04 \mu g L^{-1}$ y un $LOQ=0.15 \mu g L^{-1}$.

La **precisión** del método se estudió con una muestra de agua de mar y otra de agua termal, midiéndose once veces cada nivel de concentración.

Los resultados expresados como *RSD* se muestran a continuación:

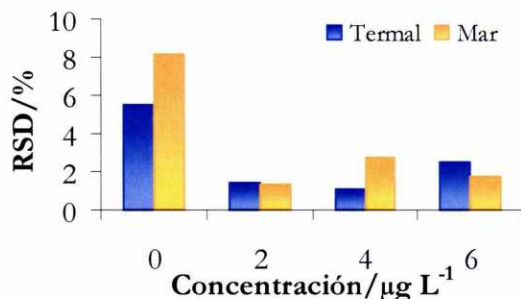


Figura 35. Desviación estándar relativa para la determinación de Sb inorgánico total

Como puede verse, la precisión obtenida para este método es aceptable para todas las concentraciones estudiadas.

Se estudió la **exactitud** del método utilizando para ello distintos materiales de referencia, tanto acuosos como sólidos.

Se estudiaron un material de referencia acuoso (TM-24 *Nearshore Seawater reference Material for Trace Metals*), así como un material de carbón (SRM 1632c, *Trace Elements in Coal (Bituminous)*), un suelo (CRM GBW07401 del *National Research council of Reference Materials, China*) y un material de ceniza (SRM 1633a, *Trace Elements in Coal Fly Ash*). Cada material fue medido once veces.

En la **Tabla 67** se muestran dichos resultados, así como las recuperaciones obtenidas. Como se puede observar las recuperaciones obtenidas son aceptables para el material de referencia de agua (TM-24) y el suelo (GBW07401), mientras que para el carbón (1632c) y la ceniza (1633a) se encuentran malas recuperaciones. Este hecho puede ser debido a una incompleta extracción del Sb, posiblemente debido a pérdidas en los reactores de teflón utilizados en el proceso de extracción ácida realizada en el horno de microondas.

Tabla 67. Exactitud del método de determinación de Sb inorgánico total (n=11)

	Concentración Sb±SD		
	Valor certificado	Valor obtenido	R (%)
TM-24 ^a	13.7±8.5	15.10±0.06	110±0.43
GBW07401 ^b	0.87±0.32	0.70±0.03	80±3.44
1632c ^b	0.461±0.029	0.25±0.02	54±4.33
1633a ^b	6.8±0.4	2.92±0.05	43±0.73

^aConcentración en µg L⁻¹

^bConcentración en µg g⁻¹

6. BIBLIOGRAFÍA

- [1] M.A. Palacios, A. Sanz Medel, 'Fluorescencia atómica', en: *Espectroscopia Atómica Analítica*, M. Blanco; V. Cerdá; A. Sanz Medel (Eds.), Publicaciones de la Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, 1990.
- [2] C. Vandecasteele, C.B. Block, *Modern Methods for Trace Element Determination*, John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, England, 1993.
- [3] L. Ebdon, E.H. Evans, A. Fisher, S.J. Hill, *An Introduction to Analytical Atomic Spectrometry*, John Wiley & Sons, West Sussex, England, 1998.
- [4] S.J. Hill, S. Chenery, J.B. Dawson, E.H. Evans, A. Fisher, W.J. Price, C.M.M. Smith, K.L. Sutton, J.F. Tyson, 'Advances in atomic emission, absorption and fluorescence spectrometry and related techniques', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 15 (2000) 763-805.
- [5] E.H. Evans, J.B. Dawson, A. Fisher, S.J. Hill, W.J. Price, C.M.M. Smith, K.L. Sutton, J.F. Tyson, 'Atomic Spectrometry Update. Advances in atomic emission, absorption, and fluorescence spectrometry, and related techniques', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 16 (2001) 672-711.
- [6] K.C. Thompson, 'The atomic-fluorescence determination of antimony, arsenic, selenium and tellurium by using the hydride generation technique', *The Analyst*, 100 (1975) 307-310.
- [7] T. Guo, M. Liu, W. Schrader, 'Use of a flow injection hydride generation technique in non-dispersive atomic fluorescence spectrometry', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 7 (1992) 667-674.
- [8] A. Martínez, A. Morales-Rubio, M.L. Cervera, M. De La Guardia, 'Atomic fluorescence determination of total and inorganic arsenic species in beer', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 16 (2001) 762-766.
- [9] M. Segura, Y. Madrid, C. Cámara, 'Evaluation of atomic fluorescence and atomic absorption spectrometric techniques for the determination of arsenic in wine and beer by direct hydride generation sample introduction', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 14 (1999) 131-135.

- [10] L. Rahman, W.T. Corns, D.W. Bryce, P.B. Stockwell, 'Determination of mercury, selenium, bismuth, arsenic and antimony in human hair by microwave digestion atomic fluorescence spectrometry', *Talanta*, 52 (2000) 833-843.
- [11] M. Vilanó, R. Rubio, 'Determination of arsenic in seafood by focused microwave digestion and hydride generation-atomic fluorescence detection', *Journal of AOAC International*, 84 (2001) 551-555.
- [12] J. Moreda-Piñeiro, M.L. Cervera, M. De La Guardia, 'Direct determination of arsenic in sea-water by continuous-flow hydride generation atomic fluorescence spectrometry', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 12 (1997) 1377-1380.
- [13] A.M. Featherstone, E.C.V. Butler, B.V. O'Grady, P. Michel, 'Determination of arsenic species in sea-water by hydride generation atomic fluorescence spectroscopy', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 13 (1998) 1355-1360.
- [14] M. Berg, H. Con Tran, T. Chuyen Nguyen, H. Viet Pham, R. Schertenleib, W. Giger, 'Arsenic contamination of groundwater and drinking water in Vietnam: A human health threat', *Environmental, Science and Technology*, 35 (2001) 2621-2626.
- [15] M.A. Suñer, V. Devesa, O. Muñoz, D. Vélez, R. Montoro, 'Application of column switching in high-performance liquid chromatography with on-line thermo-oxidation and detection by HG-AAS and HG-AFS for the analysis of organoarsenic species in seafood samples', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 16 (2001) 390-397.
- [16] Y. Bohari, A. Astruc, M. Astruc, J. Cloud, 'Improvements of hydride generation for the speciation of arsenic in natural freshwater samples by HPLC-HG-AFS', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 16 (2001) 774-778.
- [17] N.V. Semenova, L.O. Leal, R. Forteza, V. Cerdá, 'Multisyringe flow-injection system for total inorganic arsenic determination by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry', *Analytica Chimica Acta*, 455 (2002) 277-285.
- [18] J.L. Gómez-Ariza, D. Sanchez-Rodas, I. Giráldez, E. Morales, 'A comparison between ICP-MS and AFS detection for arsenic speciation in environmental samples', *Talanta*, 51 (2000) 257-268.
- [19] J.T. Van Elteren, Z. Slejkovec, M. Svetina, A. Glinsek, 'Determination of ultratrace dissolved in water-selective coprecipitation in the field combined with HG-AFS and ICP-MS measurement in the laboratory', *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 370 (2001) 408-412.

- [20] Y.W. Chen, A. D'Ulivo, 'The determination of bismuth by hydride generation and non-dispersive atomic fluorescence detection', *Analytical Letters*, 22 (1989) 1609-1622.
- [21] F. El-Hadri, A. Morales-Rubio, M. de la Guardia, 'Atomic fluorescence spectrometric determination of trace amounts of arsenic and antimony in drinking water by continuous hydride generation', *Talanta*, 52 (2000) 653-662.
- [22] I. De Gregori, H. Pinochet, E. Fuentes, M. Potin-Gautier, 'Determination of antimony in soils and vegetables by hydride generation atomic fluorescence spectrometry and electrothermal atomic absorption spectrometry. Optimization and comparison of both analytical techniques', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 16 (2001) 172-178.
- [23] A. Sayago, R. Beltrán, J.L. Gómez-Ariza, 'Hydride generation atomic fluorescence spectrometry (HG-AFS) as a sensitive detector for Sb(III) and Sb(V) speciation in water', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 15 (2000) 423-428.
- [24] P.J. Craig, T. Sergeeva, R.O. Jenkins, 'Determination of inorganic Sb(V) and methylantimony species by HPLC with hydride generation-atomic fluorescence spectrometric detection', *Mikrochimica Acta*, 137 (2001) 221-227.
- [25] Y. He, H. El Azouzi, M.L. Cervera, M. de la Guardia, 'Completely integrated on-line determination of dissolved selenium (IV) and total inorganic selenium in sea-water by flow injection hydride generation atomic fluorescence spectrometry', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 13 (1998) 1291-1296.
- [26] Y. He, J. Moreda-Piñeiro, M.L. Cervera, M. de la Guardia, 'Direct determination of dissolved selenium (IV) and selenium (VI) in sea-water by continuous flow hydride generation atomic fluorescence spectrometry', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 13 (1998) 289-293.
- [27] M.E. Moreno, C. Pérez-Conde, C. Cámara, 'Speciation of inorganic selenium in environmental matrices by flow injection analysis-hydride generation-atomic fluorescence spectrometry. Comparison of off-line, pseudo on-line and on-line extraction and reduction methods.', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 15 (2000) 681-686.
- [28] X-m. Guo, X-w. Guo, 'Determination of ultra-trace amounts of selenium by continuous flow hydride generation AFS and AAS with collection on gold wire', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 16 (2001) 1414-1418.
- [29] R. Sabé, R. Rubio, L. García-Beltrán, 'Selenium determinación in urine with atomic fluorescence detection', *Analytica Chimica Acta*, 436 (2001) 215-221.

- [30] A. D'Ulivo, K. Marcucci, E. Bramanti, L. Lampugnani, R. Zamboni, 'Studies in hydride generation atomic fluorescence determination of selenium and tellurium. Part 1-self interference effect in hydrogen telluride generation and the effect of KI', *Spectrochimica Acta Part B*, 55 (2000) 1325-1336.
- [31] K. Marcucci, R. Zamboni, A. D'Ulivo, 'Studies in hydride generation atomic fluorescence determination of selenium and tellurium. Part 2-effect of thiourea and thiols', *Spectrochimica Acta Part B*, 56 (2001) 393-407.
- [32] S.N. Deming, S.L. Morgan, *Experimental Design. A Chemometric Approach*, Elsevier, Amsterdam, 1987.
- [33] R.L. Plackett, J.B. Burman, 'The design of optimum multifactorial experiments', *Biometrika*, 33 (1946) 305-325.
- [34] E. Morgan, *Chemometrics: experimental design*, John Wiley and Sons, Chichester, UK, 1991.
- [35] J.C. Miller, J.N. Miller, *Estadística para Química Analítica*, Addison-Wesley, Iberoamericana USA, 1993.
- [36] J. Dedina, D.L. Tsalev, *Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*, Chichester, 1995.
- [37] N.M.M. Coelho, A. Cósme da Silva, C. Moraes da Silva, 'Determination of As(III) and total inorganic arsenic by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry', *Analytica Chimica Acta*, 460 (2002) 227-233.
- [38] A.G. Howard, S.D.W. Comber, 'Hydride-trapping techniques for the speciation of arsenic', *Mikrochimica Acta*, 109 (1992) 27-33.
- [39] S. Cabredo Pinillos, J. Sanz Asensio, J. Galbán Bernal, 'Simultaneous determination of arsenic, antimony and selenium by gas-phase diode array molecular absorption spectrometry after preconcentration in a cryogenic trap', *Analytica Chimica Acta*, 300 (1995) 321-327.
- [40] S. Nielsen, E.H. Hansen, 'Determination of As(III) and As(V) by flow injection-hydride generation-atomic absorption spectrometry via on-line reduction of As(V) by KI', *Analytica Chimica Acta*, 343 (1997) 5-17.

- [41] K.S. Subramanian, J.C. Meranger, 'Determination of arsenic(III), arsenic (V), antimony (III), antimony (V), selenium (IV), selenium (VI) by extraction with ammonium pyrrolidinedithiocarbamate-methylisobutylketone and electrothermal atomic absorption spectrometry', *Analytica Chimica Acta*, 124 (1981) 131-142.
- [42] B. Welz, M. Sucmanová, 'L-Cysteine as a reducing and releasing agent for the determination of antimony and arsenic using flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry. Part 1: Optimization of the analytical parameters', *The Analyst*, 118 (1993) 1417-1423.
- [43] X-C. Le, W.R. Cullen, K.J. Reimer, 'Effect of cysteine on the speciation of arsenic by using hydride generation atomic absorption spectrometry', *Analytica Chimica Acta*, 285 (1994) 277-285.
- [44] R.K. Anderson, M. Thompson, E. Culbard, 'Selective reduction of arsenic species by continuous hydride generation', *The Analyst*, 111 (1986) 1143-1152.
- [45] R. Torralba, M. Bonilla, A. Palacios, C. Cámara, 'Flow injection analysis and continuous flow systems to determine As(III) and As(V) by hydride generation atomic absorption spectrometry', *Analisis*, 22 (1994) 478-482.
- [46] R. Rubio, A. Padró, J. Albertí, G. Rauret, 'Speciation of organic and inorganic arsenic by HPLC-HG-ICP', *Mikrochimica Acta*, 109 (1992) 39-45.
- [47] E. Russeva, I. Havezov, A. Detcheva, 'Arsenic speciation in wast waters by extraction chromatography followed by atomic absorption spectrometry', *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 347 (1993) 320-323.
- [48] G. Rauret, R. Rubio, A. Padró, 'Arsenic speciation using HPLC-HG-ICP-AES with gas-liquid separator', *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 340 (1991) 157-160.
- [49] C. Hwang, S. Jiang, 'Determination of arsenic compounds in water samples by liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry with an in situ nebulizer-hydride generator', *Analytica Chimica Acta*, 289 (1994) 205-213.
- [50] Y-L. Feng, H-W. Chen, H-Y. Chen, L-C. Tian, 'Sequential determination of tin, arsenic, bismuth, and antimony in marine sediment material by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using a small concentric hydride generator and L-cysteine as prereductant', *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 361 (1998) 155-157.
- [51] X. Yin, E. Hoffmann, C. Luedke, 'Differential determination of arsenic (III) and total arsenic with L-cysteine as prereductant using a flow injection non-dispersive atomic absorption device', *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 355 (1996) 324-326.

- [52] P. Carrero, A. Malavé, J.L. Burguera, M. Burguera, C. Rondón, 'Determination of various arsenic species by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry: investigation of the effects of the acid concentration of different reaction media on the generation of arsines', *Analytica Chimica Acta*, 438 (2001) 195-204.
- [53] B. Welz, Y. He, M. Sperling, 'Flow-injection on line digestion and prereduction of arsenic for hydride generation atomic absorption spectrometry. A feasibility study', *Talanta*, 40 (1993) 1917-1926.
- [54] T. Naykki, P. Peramaki, J. Kujala, A. Mikkonen, 'Optimization of a flow injection hydride generation atomic absorption spectrometric method for the determination of arsenic, antimony and selenium in iron chloride/sulfate-based water treatment chemical', *Analytica Chimica Acta*, 439 (2001) 229-238.
- [55] J.F. Tyson, S.G. Offley, N.J. seare, H.A.B. Kibble, C. Fellows, 'Determination of arsenic in a nickel-based alloy by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry incorporating continuous-flow matrix isolation and stopped-flow prereduction procedures', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 7 (1992) 315-322.
- [56] J.K. Oygard, A-K. Lundebye, K. Julshamn, 'Determination of inorganic arsenic in marine food samples by hydrochloric acid distillation and flow-injection hydride-generation atomic absorption spectrometry', *Journal of AOAC International*, 82 (1999) 1217-1223.
- [57] D. Schaumlöffel, B. Neidhart, 'A FIA-system for As(III)/As(V)-determination with electrochemical hydride generation and AAS-detection', *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 354 (1996) 866-869.
- [58] J.L. Burguera, M. Burguera, C. Rivas, 'A flow injection-hydride generation-atomic absorption spectrometry technique for the on line determination of arsenic species after ion-exchange separation and of total arsenic after microwave-assisted digestion in urine samples', *Química Analítica*, 16 (1997) 165-176.
- [59] C.C. Chan, R.S. Sadana, 'Determination of arsenic and selenium in environmental samples by flow-injection hydride generation atomic absorption spectrometry', *Analytica Chimica Acta*, 270 (1992) 231-238.
- [60] X-P. Yan, X-B. Yin, X-W. He, Y. Jiang, 'Flow injection on-line sorption preconcentration coupled with hydride generation atomic fluorescence spectrometry for determination of (ultra)trace amounts of arsenic(III) and arsenic(V) in natural water samples', *Analytical Chemistry*, 74 (2002) 2162-2166.

[61] Y-L. Feng, H. Narasaki, L-C. Tian, H-Y. Chen, 'Speciation of Sb(V) by hydride generation high-resolution ICP-MS combined with prereduction of Sb(V) with L-cysteine', *Atomic Spectroscopy*, 21 (2000) 30-36.

[62] T. Nakahara, N. Kikui, 'Determination of trace concentrations of antimony by the introduction of stibine into an inductively-coupled plasma for atomic emission spectrometry', *Analytica Chimica Acta*, 172 (1985) 127-138.

Capítulo 5

Aplicación de los métodos desarrollados a muestras de interés ambiental

1. MATERIAL, INSTRUMENTAL Y REACTIVOS.....	269
1.1. Material e instrumental.....	269
1.2. Reactivos.....	270
2. APLICACIÓN A MUESTRAS LÍQUIDAS.....	271
2.1. Toma de muestra y conservación.....	273
2.2. Determinación mediante HG-ETAAS	275
2.3. Determinación mediante HG-AFS.....	278
3. APLICACIÓN A MUESTRAS SÓLIDAS	282
3.1. Toma de muestra y conservación.....	284
3.2. Extracción ácida de las muestras sólidas.....	285
3.3. Determinación mediante HG-ETAAS	286
3.4. Determinación mediante HG-AFS.....	292
4. APLICACIÓN A MUESTRAS DE PARTICULADO ATMOSFÉRICO EN AMBIENTE INTERIOR.....	301
4.1. Toma de muestra	302
4.2. Resultados	305
5. BIBLIOGRAFÍA	310

Como se ha mencionado en la introducción de esta memoria, los metales generadores de vapor estudiados, se encuentran ampliamente distribuidos en los distintos compartimentos medioambientales y, debido a su gran toxicidad, se hace interesante su determinación en dichos compartimentos [1,2].

En el presente capítulo, se analizan distintas muestras de interés ambiental, tanto líquidas (agua de mar y agua termal) como sólidas (extractos ácidos de carbón, ceniza, escoria y coque) aplicando para ello los métodos de análisis desarrollados anteriormente.

Asimismo, los métodos basados en la espectroscopía de fluorescencia atómica se aplican también a muestras de particulado atmosférico procedentes de un ambiente laboral.

1. MATERIAL, INSTRUMENTAL Y REACTIVOS

1.1. MATERIAL E INSTRUMENTAL

- Espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer (Überlinger, Alemania) modelo Aanalyst 800 equipado con una cámara de grafito de calentamiento transversal, un sistema por inyección en flujo FIAS 400, sistema de corrección Zeeman e inyector automático AS-800.
- Espectrofotómetro de fluorescencia atómica Millenium Excalibur PSA 10.055 (PS Analytical, Sevenoaks, Kent, UK) con llama de difusión de hidrógeno y filtros específicos.
- Sistema de inyección de vapor en continuo PSA 10.004 (PS Analytical) equipado con un separador gas-líquido tipo B y un sistema de secado Perma Pure (PS Analytical).
- Lámparas de descarga sin electrodos de As, Bi y Ge, Perkin-Elmer.

- Lámparas de cátodo hueco de doble descarga (BDHCL) de As, Bi, Sb, Se y Te (Superlamp; Photon, Victoria, Australia).
- Tubos de grafito pirolítico Perkin-Elmer, de calentamiento transversal y plataforma integrada.
- Tubo de transferencia del vapor generado al horno consistente en un capilar de cuarzo (de 2 cm longitud x 1.33 mm diámetro externo x 0.5 mm diámetro interno).
- Sistema de microondas para laboratorio de 1200W de potencia, MLS 1200 de Milestone, Sorisole, BG, Italia.
- Sistema de depuración de agua Milli-Q de $18\ \Omega\ \text{cm}^{-1}$ de resistencia específica (Millipore). Bedford, USA.

1.2. REACTIVOS

- Disolución de arsénico (V) de $1000\ \text{mg L}^{-1}$ para absorción atómica, preparada a partir de $\text{NaHASO}_4 \times 7\ \text{H}_2\text{O}$, 98.5% suministrada por Merck, Darmstad, Alemania.
- Disolución de bismuto de $1000\ \text{mg L}^{-1}$ para absorción atómica, suministrada por Panreac, Barcelona.
- Disolución de germanio de $995\ \text{mg L}^{-1}$ para absorción atómica, suministrada por Aldrich, Chemical Company, Inc. Milwaukee, USA.
- Disolución de antimonio (V) de $1.000\ \text{mg L}^{-1}$ para absorción atómica, preparada a partir de KSb(OH)_6 (Aldrich).
- Disolución de selenio (IV) de $1000\ \text{mg L}^{-1}$ para absorción atómica (Panreac).
- Disolución de telurio (IV) de $10000\ \text{mg L}^{-1}$ para ICP (Aldrich).
- Borohidruro sódico para síntesis (Merck) disuelto en 0.5% m/v de hidróxido sódico preparado diariamente (Panreac).

- Ácido clorhídrico comercial del 37% para análisis (Panreac).
- Ácido nítrico concentrado del 69-70% suministrado por Baker, Phillipsbure, USA.
- Ácido clorhídrico concentrado del 36.5-38% (Baker).
- Filtros de papel Whatman N° 40, Whatman International. Ltd, Maidstone (Reino Unido).
- Material de referencia de particulado urbano (SRM 1648, *Urban particulate matter*).
- Material de referencia de polvo urbano (SRM 1649a, *Urban dust*).

2. APLICACIÓN A MUESTRAS LÍQUIDAS

El **arsénico** es transportado en la atmósfera largas distancias y posteriormente puede producirse su deposición sobre el suelo, vegetación o masas de agua superficiales. La contaminación por arsénico en los ecosistemas acuáticos, es debida en su mayor parte a estas deposiciones atmosféricas, junto con los elementos líquidos de origen industrial y las emisiones a través de alcantarillado [3].

El agua natural normalmente contiene $0.15-0.45 \mu\text{g L}^{-1}$ de arsénico, mayoritariamente en forma inorgánica, aunque algunas aguas en Canadá, Arizona, Argentina, Chile o Nueva Zelanda pueden llegar a contener $1000 \mu\text{g L}^{-1}$. Las aguas minerales pueden llegar a tener 50 veces más cantidad de arsénico que los niveles normales, y las aguas termales hasta 300 veces más. La concentración de arsénico en el océano puede alcanzar valores de aproximadamente $2 \mu\text{g L}^{-1}$, oscilando en un rango de $0.15-6 \mu\text{g L}^{-1}$ y los niveles aumentan con la profundidad en un factor de 1.5 [2].

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, (WHO, *World Health Organization*) el agua de bebida no puede contener más de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de arsénico [4] y la cantidad permitida de arsénico en comida varía de 0.1 mg kg^{-1} (carne) a $3\text{-}5 \text{ mg kg}^{-1}$ (pescado) [5].

El límite máximo de arsénico en aguas de consumo es $50 \mu\text{g L}^{-1}$ (RD 1138/1990, 14 septiembre, 1990) y en vertidos de aguas 1 mg L^{-1} (Título IV del RD 849/1986, 30 abril 1986).

El **bismuto** no es detectable en agua de lluvia y río, sin embargo, sí lo es en agua de mar en bajas concentraciones, las cuales disminuyen con la profundidad y varían entre $2 \times 10^{-5}\text{-}3 \times 10^{-6} \mu\text{g L}^{-1}$ [2].

Las concentraciones medias de **germanio** en aguas naturales y estuarios son 0.010 y $0.029 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente. En agua de lluvia se encontraron concentraciones de $0.045 \mu\text{g L}^{-1}$ y en agua de mar está presente a niveles muy bajos [2]. Tao y Fang obtuvieron concentraciones de germanio en agua de grifo entre $0.010\text{-}0.037 \mu\text{g L}^{-1}$ [6].

En aguas naturales se encuentran concentraciones de **antimonio** entre $0.01\text{-}5 \mu\text{g L}^{-1}$, $180\text{-}5600 \mu\text{g L}^{-1}$ en océanos, $0.3\text{-}5 \mu\text{g L}^{-1}$ en ríos y $0.034 \mu\text{g L}^{-1}$ en agua de lluvia [7]. La concentración máxima admisible de antimonio en agua de consumo es $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (RD 1138/1990 ,14 septiembre, 1990).

Los niveles medios de **selenio** en agua natural son $0.2 \mu\text{g L}^{-1}$, en agua de mar el nivel es muy bajo ($0.004 \mu\text{g L}^{-1}$ en la superficie) y en océanos los niveles son de $0.2 \mu\text{g L}^{-1}$. He y col. [8,9] encontraron valores de Se(IV) en agua natural de $13\text{-}18 \text{ ng L}^{-1}$, asimismo, obtuvieron valores de Se(IV) y Se(VI) en agua de mar de la ciudad de Valencia de $26\text{-}29 \text{ ng L}^{-1}$, y $6\text{-}9 \text{ ng L}^{-1}$ respectivamente.

El aporte diario de Se en la dieta debe oscilar, entre 60 y $120 \mu\text{g}$ [2], si bien la concentración límite de selenio en agua para consumo público es de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (RD

1138/1990, 14 septiembre, 1990) y la WHO (1984) da un valor máximo para el agua de bebida de 0.01 mg L⁻¹.

Los niveles de **teluro** en aguas superficiales es de 0.3-0.9 ng L⁻¹, mientras en agua de mar es de 0.4-0.7 ng L⁻¹. No se ha detectado teluro en agua de bebida.

2.1. TOMA DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

Los métodos desarrollados se aplican al análisis de 4 muestras de agua termal y 4 muestras de agua de mar.

Las muestras de agua de mar fueron tomadas en la Ría del Burgo (muestra 1), Las Jubias (muestra 2), Muelle de Santa Cristina (muestra 3) y Playa de Oza (muestra 4) todos ellos puntos situados en las proximidades de la ciudad de A Coruña. La localización de los puntos se muestra en la **Figura 1**.



Figura 1. Localización de los puntos de muestreo de agua de mar

Se recogieron dos muestras en cada punto en recipientes de polietileno y se preservaron con HNO_3 , conservándose en frigorífico a 4°C hasta su medida.

Las muestras de agua termal fueron tomadas en dos puntos de Las Burgas (Orense) (muestras 1 y 2), en el Balneario de Lugo (muestra 3) y en el Balneario de Mondariz (muestra 4). Dichos puntos se muestran en la **Figura 2**. Al igual que en el caso de las muestras de agua de mar, se tomaron dos muestras en cada punto en recipientes de polietileno y se preservaron con HNO_3 , conservándose en frigorífico a 4°C hasta su medida.

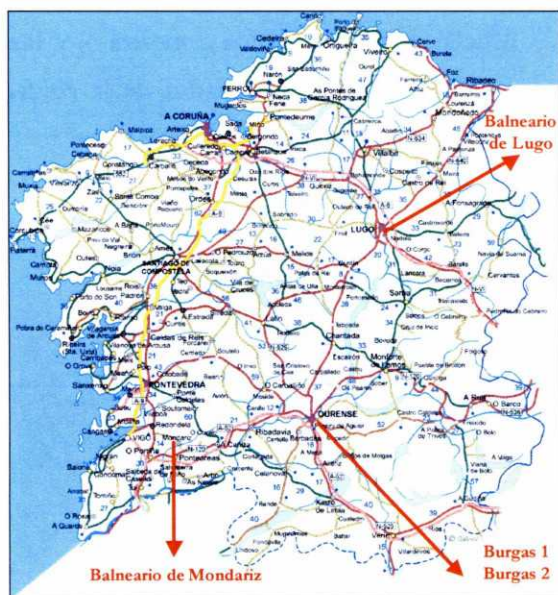


Figura 2. Localización de los puntos de muestreo de agua termal

2.2. DETERMINACIÓN MEDIANTE HG-ETAAS

Para la determinación de As, se transfirieron a un matraz de 25 mL, 5 mL de agua termal y 24 mL para el caso de agua de mar; para el Bi se transfirieron 23 mL de agua de mar y termal y para el Ge 24 mL de agua termal y de mar, debido a la menor concentración de estos dos últimos elementos esperada en dichas aguas. En todos los casos se diluyó hasta 25 mL.

Para el caso del As, la aplicación se realizó en el espectrofotómetro Aanalyst 800, debido a que dicho espectrofotómetro proporciona mayor sensibilidad que el espectrofotómetro 4100, y se determinó el contenido de As inorgánico total en todas las muestras. Se utilizaron en todos los casos las condiciones de generación optimizadas en el capítulo 3.

Para el caso del Ge la concentración encontrada está por debajo del límite de detección ($2.39 \mu\text{g L}^{-1}$), lo que concuerda con los datos aportados en la bibliografía, donde se referencian concentraciones de Ge en agua de mar $< 0.0005 \mu\text{g L}^{-1}$ [2].

A continuación se muestran las rectas de calibrado y adición, así como los límites de detección y cuantificación obtenidos para la medida de los tres metales en ambos tipos de muestras. Cabe recordar, que estos análisis fueron realizados utilizando los recubrimientos de grafito elegidos para cada elemento (capítulo 3), que resultaron ser el recubrimiento de Zr para As y Ge y el recubrimiento de U para Bi.

Tabla 1. Rectas de calibrado y adición obtenidas para agua de mar y termal

	Calibrado	Adición mar	Adición termal
As	$Ab=0.023+0.076[As]$	$Ab=0.221+0.089[As]$	$Ab=0.195+0.082[As]$
Bi	$Ab=0.017+0.052[Bi]$	$Ab=0.003+0.107[Bi]$	$Ab=0.050+0.090[Bi]$
Ge	$Ab=-0.002+0.006[Ge]$	$Ab=0.002+0.008[Bi]$	$Ab=0.075+0.006[Ge]$

A continuación se realiza una comparación entre las pendientes del calibrado y las adiciones para comprobar si existe o no efecto matriz [10] aplicando un test que compara la similitud de la varianza y las pendientes de dos líneas de regresión.

Para el As y Ge, se comprobó que no existen diferencias significativas entre las pendientes del calibrado y adición de mar y termal. Sin embargo, para el Bi las rectas de calibrado y de adición de agua termal son paralelas al 95% de confianza, mientras que con agua de mar no.

Tabla 2. LOD y LOQ obtenidos para agua de mar y agua termal

	Adición mar		Adición termal	
	LOD/ $\mu\text{g L}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g L}^{-1}$	LOD/ $\mu\text{g L}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g L}^{-1}$
As	0.26	0.89	1.25	4.20
Bi	0.20	0.67	0.13	0.46
Ge	0.31	1.04	0.41	1.38

La precisión obtenida (medida como *RSD* para $n=11$ medidas) fue aceptable en todos los casos ($<10\%$).

A continuación se muestran las concentraciones obtenidas en las muestras analizadas.

Tabla 3. Concentración de As y Bi en agua de mar

	Concentración/ $\mu\text{g L}^{-1}$ ($\pm\text{SD}$)	
	As	Bi
Muestra 1	2.02 ± 0.01	0.54 ± 0.05
Muestra 2	1.06 ± 0.05	<0.20
Muestra 3	1.00 ± 0.04	<0.20
Muestra 4	1.10 ± 0.06	<0.20

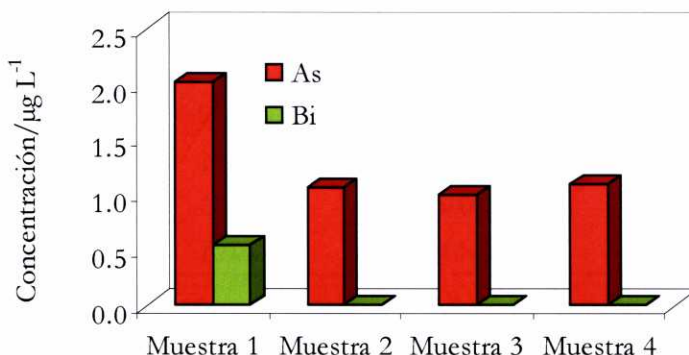


Figura 3. Concentración de As, Bi y Ge en agua de mar

Como se observa en la **Tabla 3** y **Figura 3**, los valores de As encontrados en agua de mar oscilan entre 1.00-2.02 $\mu\text{g L}^{-1}$ concordando con los valores normales de As en océanos (0.15-6 $\mu\text{g L}^{-1}$) [2]. Para el Bi, sólo la primera muestra (Ría del Burgo) dio un valor superior al límite de detección.

En las muestras de agua termal analizadas (**Tabla 4** y **Figura 4**) el Ge es el elemento presente en mayor proporción en los cuatro puntos estudiados, oscilando sus niveles entre 12.84-36.16 $\mu\text{g L}^{-1}$ mientras que el Bi es el elemento presente en menor proporción (0.26-2.06 $\mu\text{g L}^{-1}$). Además, se observa que las concentraciones de los tres metales son mayores en agua termal que en agua de mar.

Tabla 4. Concentración de As, Bi y Ge en agua termal

	Concentración/ $\mu\text{g L}^{-1}$ ($\pm\text{SD}$)		
	As	Bi	Ge
Muestra 1	3.17 ± 0.06	1.16 ± 0.12	15.66 ± 0.33
Muestra 2	4.02 ± 0.05	2.06 ± 0.01	12.84 ± 0.08
Muestra 3	1.52 ± 0.01	0.26 ± 0.13	14.33 ± 0.33
Muestra 4	10.10 ± 0.01	0.97 ± 0.01	36.16 ± 0.83

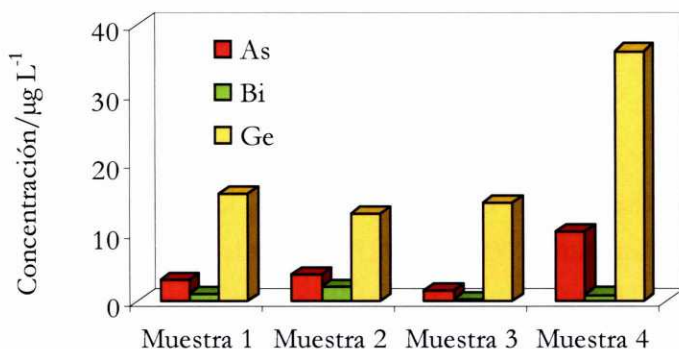


Figura 4. Concentración de As, Bi y Ge en agua termal

2.3. DETERMINACIÓN MEDIANTE HG-AFS

A continuación se determina el contenido de As inorgánico total, Bi, Sb inorgánico total, Se(IV) y Te en las muestras anteriores mediante HG-AFS, utilizando para ello los métodos de análisis desarrollados en el capítulo 4.

En este caso, el volumen de muestra consumido es diferente para cada metal, debido a que en el sistema de generación de vapor en continuo el consumo total de muestra depende del tiempo de análisis utilizado. Así, se toman 15 mL de agua termal y de mar llevados a 25 mL para el Bi, 25 mL llevados a 50 mL para el As, 10 mL llevados a 25 mL para el Sb y Te y 5 mL de agua de mar y 2 mL de agua termal llevados a 25 mL para el Se. En todos los casos se acidifican las muestras con HCl en

la misma proporción que la concentración optimizada. Para el Bi, Se y Te se trabaja con máxima ganancia (1000) realizando calibrados de 0, 0.5, 1 y 2 $\mu\text{g L}^{-1}$, 0, 20 y 40 ng L^{-1} y 0, 1 y 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente, mientras que para As el calibrado se realiza con 0, 5 y 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ (ganancia 10) y para el Sb 0, 2, 4 y 6 $\mu\text{g L}^{-1}$ (ganancia 100).

Se determina el contenido de As y Sb inorgánico total. En el caso del Te, todos los valores encontrados están por debajo del límite de detección (0.29 $\mu\text{g L}^{-1}$).

A continuación se muestran las rectas de calibrado y adición, así como los límites de detección y cuantificación obtenidos para la medida de dichas muestras.

Tabla 5. Rectas de calibrado y adición obtenidas para agua de mar y agua termal

	Calibrado	Adición mar	Adición termal
As	$I = -1.50 + 50.0[\text{As}]$	$I = 32.1 + 50.0[\text{As}]$	$I = 99.70 + 44.80[\text{As}]$
Bi	$I = 0.26 + 30.9[\text{Bi}]$	$I = -2.07 + 23.35[\text{Bi}]$	$I = 17.97 + 34.39[\text{Bi}]$
Sb	$I = -8.7 + 143.6[\text{Sb}]$	$I = 1.06 + 159.20[\text{Sb}]$	$I = 16.0 + 151.0[\text{Sb}]$
Se	$I = 19.06 + 4.42[\text{Se}]$	$I = 16.20 + 4.65[\text{Se}]$	$I = 36.05 + 4.40[\text{Se}]$

Se comprobó mediante un test t que las pendientes de las rectas de calibrado y adición de mar y termal son paralelas para todos los analitos estudiados a un nivel de confianza del 95%.

Tabla 6. LOD y LOQ obtenidos para agua de mar y agua termal

	Adición mar		Adición termal	
	LOD/ $\mu\text{g L}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g L}^{-1}$	LOD/ $\mu\text{g L}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g L}^{-1}$
As	0.04	0.13	0.04	0.13
Bi	0.30	1.01	0.30	1.01
Sb	0.14	0.47	0.14	0.47
Se	0.01	0.04	0.03	0.12

La precisión obtenida (medida como *RSD* para $n=11$ medidas) fue aceptable en todos los casos ($<10\%$).

En la **Tabla 7** y **8** se muestran las concentraciones obtenidas en las muestras analizadas.

Tabla 7. Concentración de As, Bi, Sb y Se en agua de mar

	Concentración/ $\mu\text{g L}^{-1}$ ($\pm\text{SD}$)			
	As	Bi	Sb	Se
Muestra 1	1.18 ± 0.06	<0.30	0.20 ± 0.04	0.026 ± 0.002
Muestra 2	1.06 ± 0.01	0.54 ± 0.01	0.20 ± 0.10	0.026 ± 0.002
Muestra 3	0.984 ± 0.006	0.94 ± 0.01	<0.14	<0.01
Muestra 4	1.69 ± 0.01	<0.30	<0.14	<0.01

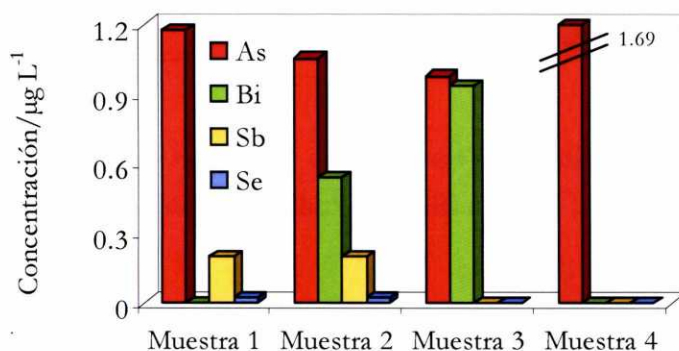


Figura 5. Concentración de As, Bi, Sb y Se en agua de mar

Como se observa en la **Figura 5**, el elemento que presenta mayores concentraciones en todas las muestras es el As, destacando particularmente la muestra 4 (Playa de Oza), donde los demás metales están por debajo del límite de detección.

Asimismo, el elemento que presenta menores concentraciones es el Se, encontrándose valores por encima del límite de detección solamente para las dos primeras muestras (Ría del Burgo y Las Jubias) de $0.02 \mu\text{g L}^{-1}$. Los bajos límites encontrados concuerdan con los aportados por la bibliografía donde se muestran valores de $0.004 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se en la superficie del mar y $26\text{-}29 \text{ ng L}^{-1}$ encontrados en aguas de mar de la ciudad de Valencia [9]. Para el Sb también se obtuvieron valores únicamente en las dos primeras muestras de $0.20 \mu\text{g L}^{-1}$. El rango de valores obtenidos para As y Bi coinciden con los obtenidos por HG-ETAAS.

Tabla 8. Concentración de As, Bi, Sb y Se en agua termal

	Concentración/ $\mu\text{g L}^{-1}$ ($\pm\text{SD}$)			
	As	Bi	Sb	Se
Muestra 1	4.41 ± 0.04	0.62 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.068 ± 0.002
Muestra 2	4.328 ± 0.005	1.05 ± 0.01	0.76 ± 0.13	5.998 ± 0.006
Muestra 3	2.37 ± 0.01	0.94 ± 0.02	1.40 ± 0.08	0.124 ± 0.002
Muestra 4	6.72 ± 0.14	1.80 ± 0.02	<0.14	0.053 ± 0.002

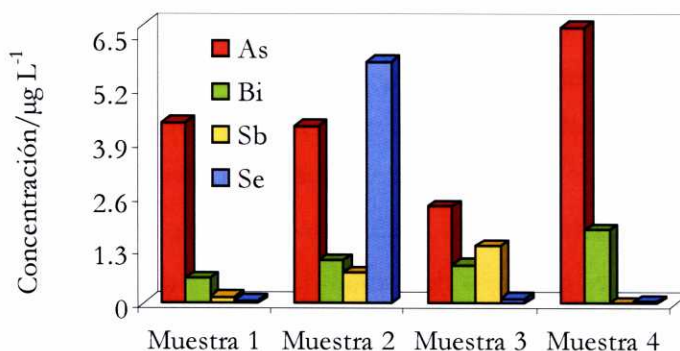


Figura 6. Concentración de As, Bi, Sb y Se en agua termal

En la **Figura 6** se observa de nuevo que el elemento presente en mayores concentraciones en las muestras de agua termal es el As, encontrándose una concentración anormalmente alta de Se en la muestra 2.

A modo de conclusión, los valores altos encontrados para algunos metales en la muestra 1 (Ría del Burgo) pueden ser debidos a la actividad industrial que existió hasta hace poco tiempo en las proximidades de la ría. Por otro lado la Playa de Oza (muestra 4) presenta los menores niveles de dichos metales (excepto el As), estando el resto por debajo del límite de detección.

En cuanto a las muestras de agua termal estudiadas, se obtuvieron valores similares de todos los metales para las dos muestras de las Burgas (muestras 1 y 2), lo que era de esperar, excepto para el caso del Se, el cual se encuentra a niveles anormalmente altos en la muestra 2 (Las Burgas 2).

3. APLICACIÓN A MUESTRAS SÓLIDAS

Las emisiones de metales a la atmósfera, pueden tener un origen natural debido a erupciones volcánicas, arrastre de polvo de suelos contaminados o incendios forestales, o bien un origen antropogénico debido a fundiciones industriales o quema de combustibles fósiles para generar energía.

Las fundiciones industriales son la fuente principal de emisión de **arsénico** a la atmósfera, siendo también muy importantes las emisiones por la quema de combustibles fósiles para producir energía [11]. La emisión antropogénica de arsénico en el medioambiente debido a la industria, minería y quema de combustibles fósiles supera las 124000 T/año [2]. Das y col. mostraron niveles de arsénico en cenizas obtenidos en distintas centrales de India entre $40 \pm 20 \mu\text{g g}^{-1}$ [12], mientras que He y col. obtuvieron valores en minas de carbón de China entre 55.71 ± 2.32 y $133 \pm 21.69 \mu\text{g g}^{-1}$ [13].

La mayoría del **bismuto** se produce como subproducto en el refinado del Pb, Cu, Sn, Ag y Au. La producción anual se estima en 4000T. No se conocen valores de este elemento en carbones o derivados.

El **germanio** puede ser obtenido de las cenizas del carbón u otros lignitos. La producción anual de germanio ha sido estimada en 125 T. El germanio constituye aproximadamente el 0.0007% de la corteza terrestre y está presente en altas concentraciones en carbones, lignitos y minerales de zinc y plomo-zinc-cobre. Se encontraron concentraciones entre 70-120 $\mu\text{g g}^{-1}$ en cenizas de lignitos [14].

Iordanidis y col. dieron concentraciones de **antimonio** en cenizas de 40 $\mu\text{g g}^{-1}$ y en muestras de lignito entre 23-204 $\mu\text{g g}^{-1}$ [15]. Kaakinen y cols. recogen ceniza en una central térmica con una concentración de antimonio de 18 $\mu\text{g g}^{-1}$ y Klein y cols. con 12 $\mu\text{g g}^{-1}$ [16,17].

El **selenio** es un elemento ampliamente utilizado en la fabricación de semiconductores, fotoceldas y en la industria del cristal. Aproximadamente un 14% del selenio es utilizado en pigmentos inorgánicos. Su origen natural se debe a diversos procesos biológicos y erupciones volcánicas, y su origen antropogénico es debido a producción de energía, fundiciones y refinería. Clarke y Sloss presentan niveles de selenio en carbón entre 0.2 y 1.5 $\mu\text{g g}^{-1}$ [18], mientras que He y col. obtienen niveles entre 0.15 ± 0.01 y $7.24 \pm 0.12 \mu\text{g g}^{-1}$ [13].

La mayor parte del **teluro** presente en el medioambiente es debida a procesos de combustión del carbón, así en USA se han estimado concentraciones de teluro en cenizas de 2 $\mu\text{g m}^{-3}$ [2].

En el presente apartado se realiza la aplicación de los métodos desarrollados al análisis de extractos ácidos del carbón y de sus derivados procedentes de emisiones de una central térmica española.

3.1. TOMA DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

(a) Muestreo de carbón

El proceso de recogida de carbón se realiza en cada uno de los alimentadores de la caldera, recogién dose en un cazo de acero tres réplicas de unos 3 kg de muestra cada 15 minutos durante 1 hora. Con el volumen total de la muestra (unos 250 kg) se realizan procesos de homogeneización y reducción de la misma mediante métodos de reducción cruzada con una trituración simultánea, repitiendo esta operación cuantas veces sea necesario, hasta obtener aproximadamente 300 g de muestra.

(b) Muestreo de ceniza

La ceniza se recoge con una paleta, directamente de la cinta transportadora situada a la salida del silo de almacenamiento. La muestra recogida (unos 40 kg) se somete al mismo proceso de cuarteos realizado con los carbones.

(c) Muestreo de escoria

La escoria se recoge en un colector situado en la parte inferior de la caldera, siendo transportada a través de una cinta transportadora hasta el silo. Se toma la muestra por triplicado cada 15 minutos durante 1 hora. La muestra total recogida (unos 100 kg) se somete al mismo proceso de cuarteos realizado a los carbones.

(d) Muestreo de coque

Se recoge un aparte representativa de coque en un recipiente situado en la parte inferior de las tolvas ubicado justo antes de la caldera, según normas ASTM [19,20].

Las muestras sólidas fueron sometidas a un pretratamiento en el cual los carbones y escorias fueron triturados en un molino de bolas, liofilizados y tamizados, con anterioridad a su tratamiento ácido con la energía de microondas. El coque y las cenizas volantes no requirieron tratamiento previo alguno.

3.2. EXTRACCIÓN ÁCIDA DE LAS MUESTRAS SÓLIDAS

La extracción ácida de las muestras sólidas se llevó a cabo empleando recipientes cerrados y la energía de microondas como fuente de calentamiento [21-23]. El proceso se detalla a continuación:

Se pesan 0.4 g de muestra que son depositados en los reactores de teflón, a continuación se añaden 6 mL de HCl, 2 mL de HNO₃ y 1 mL de H₂O. Se realizan tres réplicas de cada muestra y se preparan dos blancos en cada carro de muestras. Finalmente los reactores se cierran y se introducen en el horno de microondas (Figura 7).



Figura 7. Horno microondas MILESTONE con reactores de teflón

El programa de calentamiento seguido es el siguiente:

Tabla 9. Programa de microondas para la extracción ácida de las muestras sólidas

Etapas	Tiempo/min.	Potencia/W
Etapas 1	5	300
Etapas 2	3	650
Etapas 3	3	450
Venteo	3	0

Una vez finalizado el programa se dejan enfriar los reactores aproximadamente 1 hora en baño de agua y se filtra (Filtros Whatmann n° 40) el contenido de los mismos en matraces de 25 mL. Para el caso de cenizas en matraces de 50 mL.

Las muestras digeridas se trasvasan a frascos de polietileno y se conservan en frigorífico a 4°C hasta su análisis.

3.3. DETERMINACIÓN MEDIANTE HG-ETAAS

Para el As se transfirieron 10 mL del extracto de coque a un matraz de 25 mL, 500 µL de ceniza a otro matraz de 25 mL, 625 µL de escoria a uno de 50 mL y 250 µL de carbón a uno de 50 mL (en estos últimos haciendo las diluciones oportunas). En todos los casos se diluyó hasta enrase.

Para el Bi se transfirieron 2.5 mL de carbón y escoria, 250 µL de ceniza y 5 mL de coque a un matraz de 25 mL, diluyendo en todos los casos hasta enrase.

No se encontró Ge en ninguna de las muestras de carbones, escorias y coques estudiadas, por lo que sólo se determinó su contenido en cenizas, transfiriendo 0.5 mL a un matraz de 25 mL.

A continuación se muestran las rectas de calibrado y adición, así como los límites de detección y cuantificación obtenidos para la medida de los tres metales en este tipo de muestras (**Tablas 10-12**). No se obtuvo suficiente sensibilidad para determinar Bi en muestras de coques, además, para el Ge sólo se obtuvo sensibilidad suficiente para las muestras de cenizas.

Tabla 10. Rectas de calibrado y adición obtenidas para carbón y ceniza

	Calibrado	Adición carbón	Adición ceniza
As	$Ab=0.031+0.077[As]$	$Ab=0.243+0.064[As]$	$Ab=0.182+0.064[As]$
Bi	$Ab=0.008+0.034[Bi]$	$Ab=0.042+0.027[Bi]$	$Ab=0.048+0.020[Bi]$
Ge	$Ab=-0.002+0.006[Ge]$	-	$Ab=0.164+0.005[Ge]$

Tabla 11. Rectas de calibrado y adición obtenidas para escoria y coque

	Adición escoria	Adición coque
As	$Ab=0.126+0.085[As]$	$Ab=0.308+0.061[As]$
Bi	$Ab=0.014+0.019[Bi]$	-
Ge	-	-

Estadísticamente, se comprobó que las rectas de calibrado y adición son paralelas (95% de confianza).

Tabla 12. Límites de detección y cuantificación obtenidos para carbón, ceniza, escoria y coque

	Carbón		Ceniza		Escoria		Coque	
	LOD/ $\mu\text{g g}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g g}^{-1}$	LOD/ $\mu\text{g g}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g g}^{-1}$	LOD/ $\mu\text{g g}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g g}^{-1}$	LOD/ $\mu\text{g g}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g g}^{-1}$
As	1.25	4.50	62.50	225	0.48	1.76	0.01	0.05
Bi	0.25	0.85	2.42	8.07	0.19	0.64	0.10	0.32
Ge	0.25	0.83	1.25	4.16	0.12	0.41	0.12	0.41

La **Tabla 13** y la **Figura 8** recogen los niveles de As y Bi encontrados en las muestras de carbones analizadas. Sólo la muestra 1 ofrece una concentración alta de Bi ($53 \mu\text{g g}^{-1}$), mientras que las demás muestras están por debajo de $2 \mu\text{g g}^{-1}$. Los valores obtenidos para el As en todas las muestras son similares, en un rango desde 65.3 - $118.3 \mu\text{g g}^{-1}$, y están dentro de los valores indicados por Clarke y Sloss, los cuales indican que la concentración media mundial del arsénico en el carbón es de $10 \mu\text{g g}^{-1}$, dentro de un rango de 0.5 - $80 \mu\text{g g}^{-1}$ [18]. Para el Ge, los valores encontrados en el carbón están por debajo del límite de detección.

Tabla 13. Concentración de As y Bi en carbones

	Concentración/ $\mu\text{g g}^{-1}$ ($\pm\text{SD}$)	
	As	Bi
Muestra 1	90.05 ± 0.03	53.00 ± 0.30
Muestra 2	118.30 ± 0.07	1.13 ± 0.46
Muestra 3	65.30 ± 0.01	1.55 ± 0.38
Muestra 4	76.40 ± 0.07	1.15 ± 0.05
Muestra 5	78.80 ± 0.17	0.73 ± 0.01
Muestra 6	-	0.90 ± 0.03

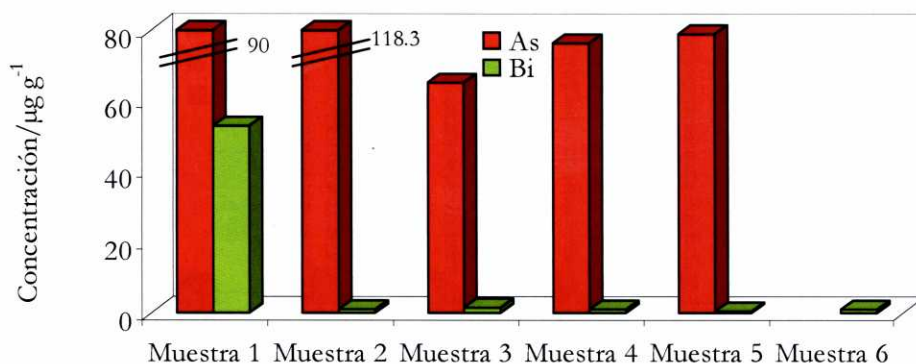


Figura 8. Concentración de As y Bi en carbones

A continuación se muestran las concentraciones de As, Bi y Ge encontradas en las muestras de cenizas.

Tabla 14. Concentración de As, Bi y Ge en cenizas

	Concentración/μg g ⁻¹ (±SD)		
	As	Bi	Ge
Muestra 1	2187±0.03	11.87±0.07	99.00±0.01
Muestra 2	2253±0.20	12.50±0.02	125.00±0.02
Muestra 3	2031±0.03	11.87±0.03	117.50±0.02
Muestra 4	2414±0.05	14.68±0.05	131.80±0.03
Muestra 5	-	11.25±0.24	6.25±0.01
Muestra 6	-	3.12±0.05	7.50±0.01

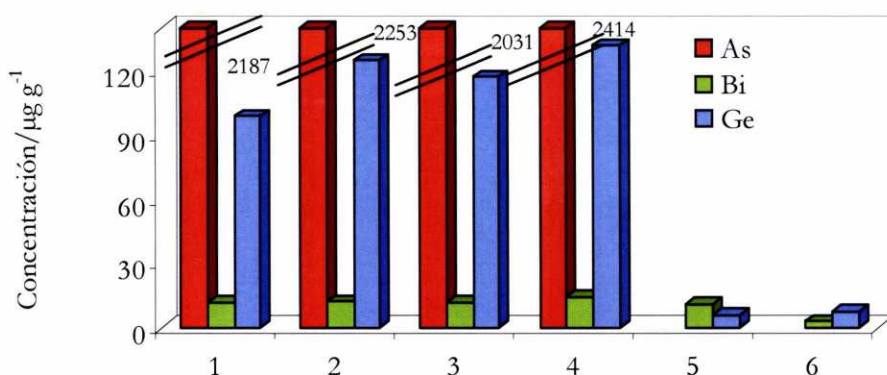


Figura 9. Concentración de As, Bi y Ge en cenizas

Al igual que lo observado para los carbones, en el caso de las cenizas se observan los valores más altos para el As, estando todos entre 2031-2414 $\mu\text{g g}^{-1}$, mientras que para el Bi y Ge los valores son claramente inferiores.

Las concentraciones de As y Bi encontradas en las escorias se muestran en la **Tabla 15** y **Figura 10**. Para el Ge todas las muestras están por debajo del límite de detección.

Tabla 15. Concentración de As y Bi en escorias

	Concentración/ $\mu\text{g g}^{-1}$ ($\pm\text{SD}$)	
	As	Bi
Muestra 1	6.59 \pm 0.05	0.42 \pm 0.05
Muestra 2	24.70 \pm 0.01	0.23 \pm 0.03
Muestra 3	12.44 \pm 0.03	<0.19
Muestra 4	3.54 \pm 0.02	<0.19
Muestra 5	5.32 \pm 0.01	<0.19
Muestra 6	-	<0.19

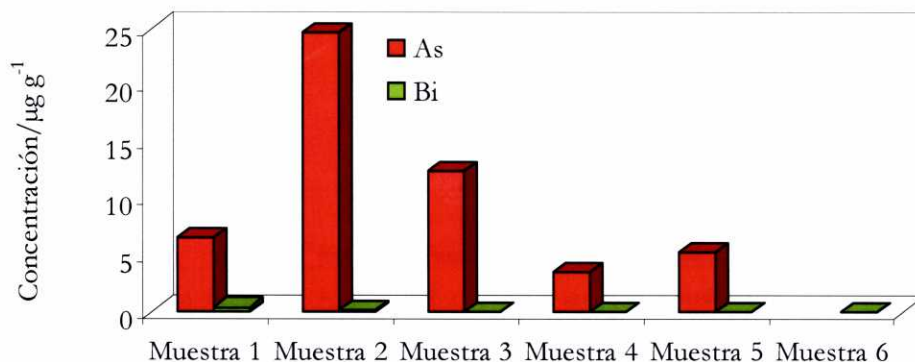


Figura 10. Concentración de As y Bi en escorias

En la **Figura 10** se observa una concentración de As en escorias entre 3.54-24.70 $\mu\text{g g}^{-1}$, intervalo similar al encontrado en la bibliografía [24], mientras que para el Bi sólo dos muestras dieron valores por encima del límite de detección.

Para el coque (**Tabla 16 y Figura 11**) los valores de Bi y Ge, se encuentran por debajo del límite de detección, mientras que para el As, los valores son bajos, entre 0.16-0.64 $\mu\text{g g}^{-1}$.

Tabla 16. Concentración de As en coques

	Concentración As/ $\mu\text{g g}^{-1}$ ($\pm\text{SD}$)
Muestra 1	0.363 \pm 0.006
Muestra 2	0.605 \pm 0.004
Muestra 3	0.241 \pm 0.006
Muestra 4	0.163 \pm 0.005
Muestra 5	0.646 \pm 0.004

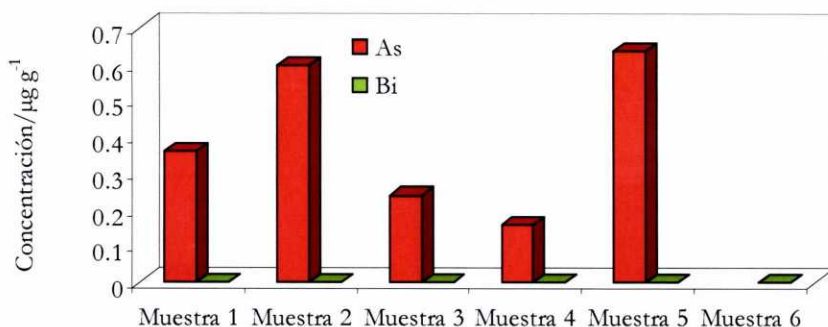


Figura 11. Concentración de As y Bi en coques

3.4. DETERMINACIÓN MEDIANTE HG-AFS

A continuación se determina el contenido de As, Bi, Sb, Se y Te en las muestras anteriores mediante HG-AFS.

Por ello se toman 250 μL de ceniza y carbón y 500 μL de escoria y coque llevados a 25 mL para el Bi. De carbón y ceniza 500 μL , y 1 mL de escoria y coque llevados a 50 mL para el As. 500 μL de carbón, 100 μL de ceniza, 1 mL de escoria y 2.5 mL de coque llevados a 25 mL para el Sb. Para el Se, 1 mL de carbón y escoria, 500 μL de ceniza y 2 mL de coque llevados a 25 mL y para el Te, 500 μL de carbón, escoria, ceniza y coque llevados a 25 mL.

En todos los casos se acidifican las muestras con HCl en la misma proporción que la concentración optimizada.

Para el Bi, y Te se trabaja con máxima ganancia (1000) realizando calibrados de 0, 0.5, 1 y 2 $\mu\text{g L}^{-1}$, y 0, 1 y 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente. Para el Se se trabaja con ganancia 10 realizando calibrados de 0, 2 y 4 $\mu\text{g L}^{-1}$ mientras que para As la escoria y el coque

fueron medidos con ganancia 10 (0, 5 y 10 $\mu\text{g L}^{-1}$) y el carbón y la ceniza con ganancia 1 (0, 50 y 100 ng L^{-1}). Finalmente el carbón, escoria y coque para el Sb fueron medidos con ganancia 100 (0, 2, 4 y 6 $\mu\text{g L}^{-1}$) y la ceniza con ganancia 10 (0, 20 y 40 ng L^{-1}).

Se determinará el contenido de As y Sb inorgánico total. A continuación (**Tabla 17**) se muestran las rectas de calibrado y adición, así como los límites de detección y cuantificación obtenidos para la medida de dichas muestras.

Tras la realización del test t para comprobar la similitud entre las pendientes de calibrado y adición, no se encontraron diferencias significativas entre las pendientes para el caso del Bi ni Sb para ninguna de las matrices estudiadas.

Para el As, las rectas de calibrado y adición no resultaron ser paralelas en el caso de la adición de carbón y ceniza, mientras que para el Se sucedió esto con la adición del coque. Finalmente, para el Te se encontraron diferencias significativas entre la pendiente del calibrado y la adición del carbón, mientras que las demás pendientes resultaron ser paralelas.

Tabla 17. Rectas de calibrado y adición para carbón, ceniza, escoria y coque para As, Bi, Sb, Se y Te

	Ganancia	Calibrado	Adición carbón	Adición ceniza	Adición escoria	Adición coque
Bi	1000	$I=0.26+30.97[\text{Bi}]$	$I=32.63+34.12[\text{Bi}]$	$I=32.78+33.30[\text{Bi}]$	$I=51.17+32.90[\text{Bi}]$	-
Se	10	$I=0.16+46.9[\text{Se}]$	$I=32.14+46.8[\text{Se}]$	$I=161.1+49.7[\text{Se}]$	$I=-2.8+46.8[\text{Se}]$	$I=6.46+53.8[\text{Se}]$
Te	1000	$I=24.5+37.40[\text{Te}]$	$I=32.80+19.0[\text{Te}]$	$I=36.18+46.55[\text{Te}]$	$I=44.8+27.97[\text{Te}]$	-
As	1	$I=13.1+5.54[\text{As}]$	$I=46.52+1.75[\text{As}]$	$I=115.4+1.31[\text{As}]$	-	-
	10	$I=-1.5+50.0[\text{As}]$	-	-	$I=71.7+52.08[\text{As}]$	$I=4.3+49.70[\text{As}]$
Sb	100	$I=-8.7+143.6[\text{Sb}]$	$I=635.2+183.7[\text{Sb}]$	-	$I=90.1+127.3[\text{Sb}]$	$I=4.2+125.4[\text{Sb}]$
	10	$I=-3.3+13.4[\text{Sb}]$	-	$I=207.0+14.7[\text{Sb}]$	-	-

A continuación se muestran los límites de detección y cuantificación obtenidos para la medida de los cinco metales en las distintas muestras.

Tabla 18. Límites de detección y cuantificación obtenidos para carbón, ceniza, escoria y coque

	Carbón		Ceniza		Escoria		Coque	
	LOD/ $\mu\text{g g}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g g}^{-1}$	LOD/ $\mu\text{g g}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g g}^{-1}$	LOD/ $\mu\text{g g}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g g}^{-1}$	LOD/ $\mu\text{g g}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g g}^{-1}$
As	1.10	3.70	1.10	3.70	0.06	0.20	0.06	0.20
Bi	1.15	3.83	1.15	3.83	0.50	1.91	0.50	1.91
Sb	0.17	0.58	8.04	26.8	0.08	0.29	0.03	0.11
Se	0.02	0.08	0.04	0.16	0.02	0.08	0.01	0.04
Te	1.37	3.67	1.37	3.67	1.37	3.67	1.37	3.67

La precisión obtenida (medida como *RSD* para $n=11$ medidas) fue aceptable en todos los casos ($<10\%$).

La **Tabla 19** recoge las concentraciones obtenidas en las muestras analizadas

Tabla 19. Concentración de As, Bi, Sb, Se y Te en carbón

	Concentración/ $\mu\text{g g}^{-1}$ ($\pm\text{SD}$)				
	As	Bi	Sb	Se	Te
Muestra 1	113.50 \pm 1.10	1.90 \pm 0.05	8.50 \pm 0.08	0.85 \pm 0.05	2.46 \pm 0.20
Muestra 2	41.40 \pm 0.30	3.00 \pm 0.14	<0.17	4.50 \pm 0.36	3.19 \pm 0.88
Muestra 3	41.40 \pm 0.25	2.10 \pm 0.05	<0.17	5.12 \pm 0.05	<1.37
Muestra 4	108.57 \pm 1.02	1.30 \pm 0.01	10.30 \pm 0.07	0.97 \pm 0.01	<1.37
Muestra 5	109.64 \pm 1.40	<1.15	18.70 \pm 0.01	1.63 \pm 0.01	2.13 \pm 0.52
Muestra 6	87.85 \pm 1.02	2.80 \pm 0.20	18.70 \pm 0.07	2.20 \pm 0.02	1.44 \pm 0.70

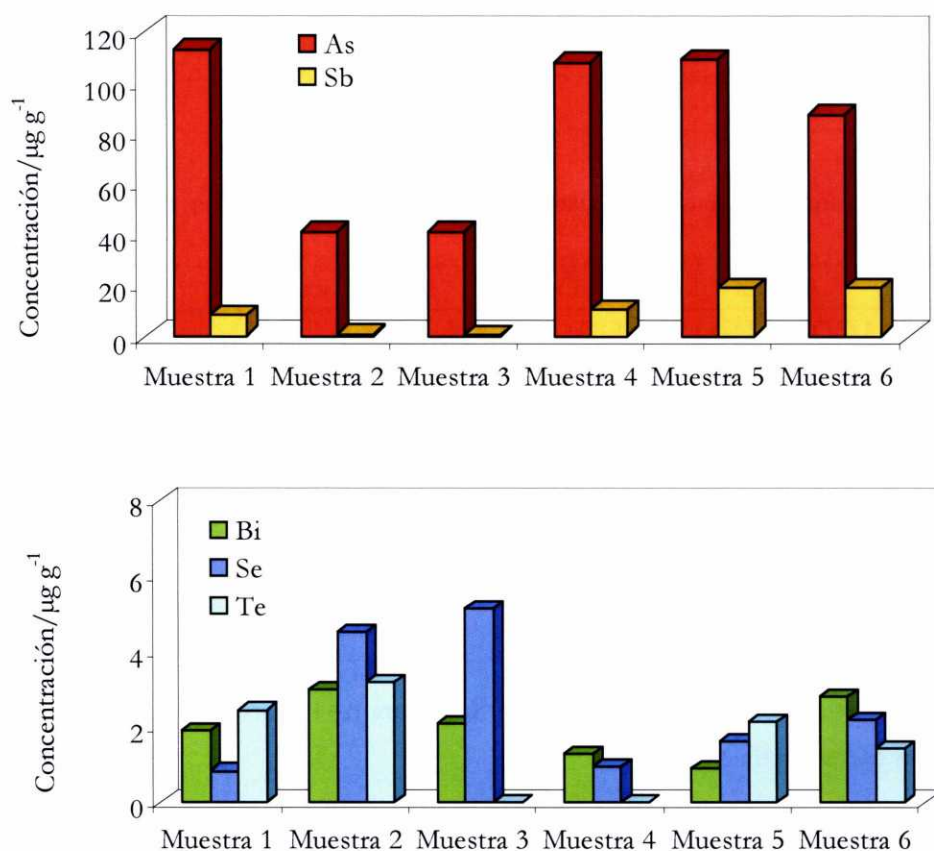


Figura 12. Concentración de As, Bi, Sb, Se y Te en carbón

Como se observa en la **Tabla 19 y Figura 12**, los valores más altos encontrados en el carbón son de As, variando dichos valores entre 41-113 $\mu\text{g g}^{-1}$, mientras que para los restantes metales los valores obtenidos son mucho más bajos en un rango entre 0.57-18.7 $\mu\text{g g}^{-1}$. Para el caso del Se los valores obtenidos (0.85-5.12 $\mu\text{g g}^{-1}$) son similares a los reflejados en la bibliografía [18,24].

En cuanto a las cenizas, todas las muestras presentan valores superiores a los carbones para todos los elementos estudiados. Las muestras sólidas analizadas son procedentes de un proyecto de investigación realizado en el departamento y en el caso de las cenizas no fue posible analizar las mismas muestras por HG-AAS y HG-AFS, lo que justifica los diferentes valores de los metales encontrados.

Tabla 20. Concentración de As, Bi, Sb, Se y Te en ceniza

	Concentración/ $\mu\text{g g}^{-1}$ ($\pm\text{SD}$)				
	As	Bi	Sb	Se	Te
Muestra 1	656.7 \pm 1.7	4.62 \pm 0.13	<8.04	10.79 \pm 0.02	1.92 \pm 0.25
Muestra 2	778.1 \pm 0.5	<1.15	<8.04	6.62 \pm 0.03	1.53 \pm 0.25
Muestra 3	190.8 \pm 2.5	5.11 \pm 0.08	119.6 \pm 0.1	6.50 \pm 0.02	2.66 \pm 0.13
Muestra 4	546.0 \pm 3.5	5.07 \pm 0.08	173.8 \pm 0.1	8.38 \pm 0.02	<1.37
Muestra 5	1086.5 \pm 3.6	9.62 \pm 0.10	155.40 \pm 0.03	8.25 \pm 0.01	2.07 \pm 0.20
Muestra 6	1443.9 \pm 3.9	6.42 \pm 0.08	217.6 \pm 0.1	8.19 \pm 0.02	1.63 \pm 0.21

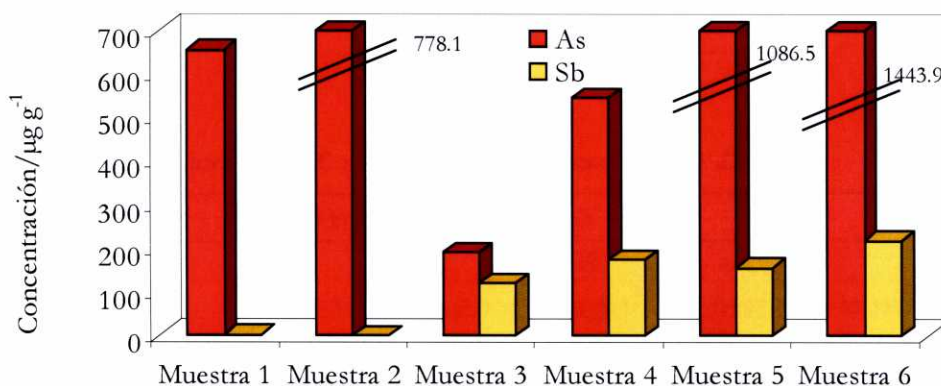


Figura 13. Concentración de As, Bi, Sb, Se y Te en ceniza (continúa)

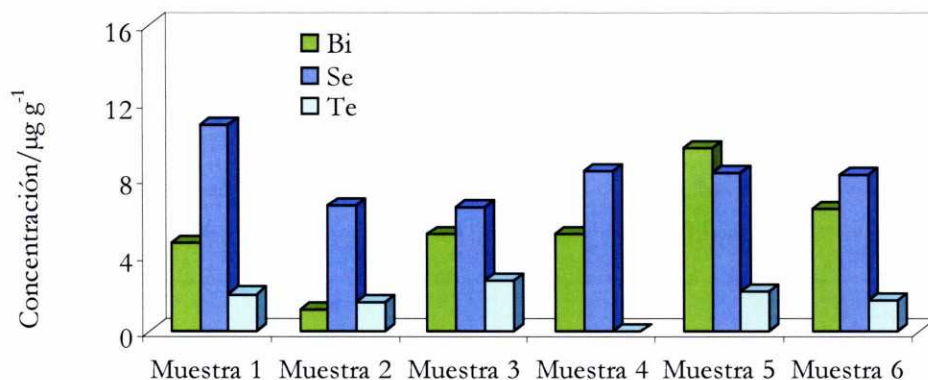


Figura 13. Concentración de As, Bi, Sb, Se y Te en ceniza (continuación)

Como se observa en la **Tabla 20** y **Figura 13**, los valores más altos de As y Sb se encuentran en las cenizas, y los más bajos para el Te. Los niveles encontrados para el Se ($6.50\text{--}10.79 \mu\text{g g}^{-1}$), se ven ampliamente rebasados por los $62 \mu\text{g g}^{-1}$ que presentan Kaakinen y col. [16], mientras que Vilariño presenta valores similares ($10\text{--}27 \mu\text{g g}^{-1}$) [24].

A continuación, se muestran los valores de As, Bi, Sb, Se y Te encontrados en la escoria.

Tabla 21. Concentración de As, Bi, Sb, Se y Te en escoria

	Concentración/ $\mu\text{g g}^{-1}$ ($\pm\text{SD}$)				
	As	Bi	Sb	Se	Te
Muestra 1	6.39 ± 0.16	1.8 ± 0.20	0.56 ± 0.01	1.74 ± 0.02	<1.37
Muestra 2	6.25 ± 0.06	<0.50	0.64 ± 0.10	1.20 ± 0.08	2.18 ± 0.05
Muestra 3	3.61 ± 0.19	<0.50	0.92 ± 0.06	0.06 ± 0.01	2.87 ± 0.03
Muestra 4	1.85 ± 0.05	<0.50	0.42 ± 0.02	0.12 ± 0.05	1.38 ± 0.29
Muestra 5	1.09 ± 0.01	<0.50	0.29 ± 0.01	0.05 ± 0.01	<1.37
Muestra 6	1.39 ± 0.04	<0.50	0.38 ± 0.01	0.06 ± 0.01	1.74 ± 0.05

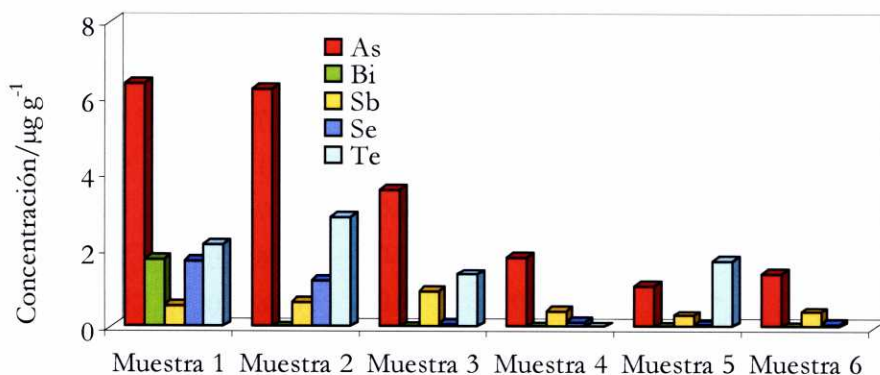


Figura 14. Concentración de As, Bi, Sb, Se y Te en escoria

Como se observa en la **Tabla 21** y **Figura 14**, en las muestras de escoria los niveles más altos de los elementos determinados se registran para el As, mientras que sólo en la muestra 1 se detecta Bi. En todos los casos, estas concentraciones son inferiores a las encontradas en la bibliografía [24]. Para el Se nuevamente se encuentra una referencia bibliográfica con una concentración superior a $7.7 \mu\text{g g}^{-1}$ [16].

Finalmente, en la **Tabla 22** se muestran las concentraciones de los analitos estudiados en muestras de coques.

Tabla 22. Concentración de As, Bi, Sb, Se y Te en coque

	Concentración/ $\mu\text{g g}^{-1}$ ($\pm\text{SD}$)				
	As	Bi	Sb	Se	Te
Muestra 1	<0.06	<0.50	<0.03	0.07 ± 0.01	<1.37
Muestra 2	1.72 ± 0.09	<0.50	<0.03	0.07 ± 0.01	<1.37
Muestra 3	1.99 ± 0.01	<0.50	<0.03	0.11 ± 0.06	<1.37
Muestra 4	<0.06	<0.50	<0.03	0.07 ± 0.01	<1.37
Muestra 5	<0.06	<0.50	<0.03	0.06 ± 0.01	<1.37
Muestra 6	<0.06	<0.50	<0.03	0.06 ± 0.01	<1.37

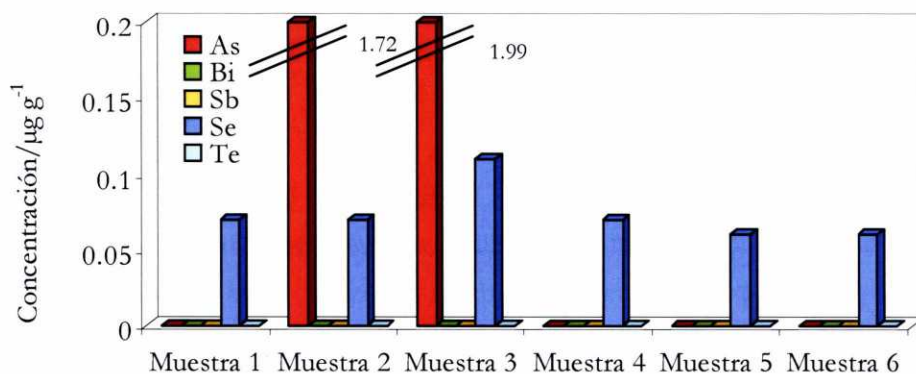


Figura 15. Concentración de As, Bi, Sb, Se y Te en coque

En la **Tabla 22** y **Figura 15** se observa que los valores de Bi, Sb y Te para el coque encontrados están por debajo del límite de detección, mientras que los valores mayores se dieron para el As en las muestras 2 y 3. En las demás muestras, los valores de As estuvieron por debajo del límite de detección. Para el Se, sin embargo, las cuatro muestras ofrecen resultados similares entre 0.06 - $0.11 \mu\text{g g}^{-1}$.

4. APLICACIÓN A MUESTRAS DE PARTICULADO ATMOSFÉRICO EN AMBIENTE INTERIOR

Se define particulado atmosférico como las pequeñas partículas, tanto sólidas como líquidas, presentes en la atmósfera que pueden ser emitidas debido a fuentes naturales (incendios forestales, actividad volcánica, etc.) o debidas a causas antropogénicas como procesos de combustión o diversas actividades industriales.

Debido a las emisiones antropogénicas la composición del particulado atmosférico puede verse afectada por la presencia de diversos contaminantes. En esta memoria se estudia la presencia de los metales generadores de vapor estudiados hasta ahora (As, Bi, Sb, Se y Te) en muestras de particulado atmosférico interior, perteneciente a ambientes laborales.

Existen diversas directivas y disposiciones relativas a los niveles máximos permitidos para estos metales, además de otros productos químicos, en el medio ambiente laboral. Entre ellas se encuentran la ley 31/1995, 8 de Noviembre, de prevención de riesgos laborales, y del Real decreto 39/1997, de 17 de Enero, por el que se aprueba el Reglamento de los Servicios de Prevención, los cuales implican la necesaria utilización de valores límite de exposición para poder valorar los riesgos específicos debidas a exposiciones de agentes químicos. Los agentes químicos en la actualidad, están regulados en España por el RD 374/2001 de 6 de Abril sobre la protección de la salud y la seguridad de los trabajadores contra los riesgos relacionados con los agentes químicos durante el trabajo, siendo los valores límite de referencia los VLA reflejados en el “Documento sobre límites de exposición profesional para agentes químicos en España 2001-2002” publicada por el INSHT y aprobado por la Comisión Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. Asimismo, el RD 665/1997 de 12 de Mayo es la normativa específica laboral contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes químicos durante el trabajo.

Los niveles de estos metales traza en los ambientes de trabajo se encuentran por debajo de los límites de detección de la mayoría de las técnicas analíticas disponibles en la actualidad. Este hecho implica la necesidad de realizar una etapa de preconcentración del analito previa a la medida, con todos los problemas asociados (consumo de tiempo, pérdida del analito y/o posible contaminación de la muestra) que ello conlleva. La gran sensibilidad (límites de detección de unas pocas partes por trillón), rapidez, versatilidad y automatización proporcionada por la espectroscopía de fluorescencia atómica, hace que esta técnica sea la idónea para llevar a cabo la determinación de los niveles de estos metales en atmósferas de trabajo.

4.1. TOMA DE MUESTRA

Para la determinación de los metales objeto de estudio en muestras de particulado atmosférico, se han seleccionado cinco zonas de muestreo en las cuales se desarrollan diferentes actividades laborales, con el objetivo de determinar, además, el posible efecto nocivo de dichos metales en las personas expuestas a ellos.

Para ello se realizó un muestreo en un taller mecánico (muestra 1), una obra en construcción (muestra 2), estación de ferrocarril (muestra 3), estación de autobuses (muestra 4) y un parking público subterráneo (muestra 5). En la **Figura 16** se puede observar la localización de los diferentes puntos de muestreo.

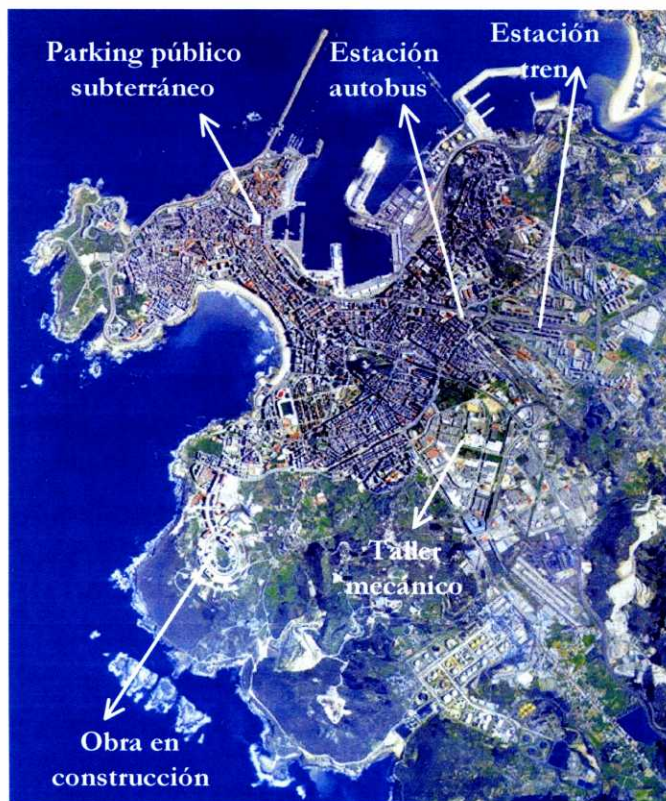


Figura 16. Localización de los puntos de muestreo de particulado atmosférico

El muestreo se realizó mediante una bomba manual Buck I.H. (**Figura 17**) con un accesorio para recogida de material particulado sobre un filtro de microfibras de vidrio Whatmann 3.2 cm GF/A [25]. El tamaño de partícula muestreado es el TSP (*Total Suspended Particulate*), debido a que la bomba utilizada no está equipada con cabezal de tamaño selectivo de partículas.

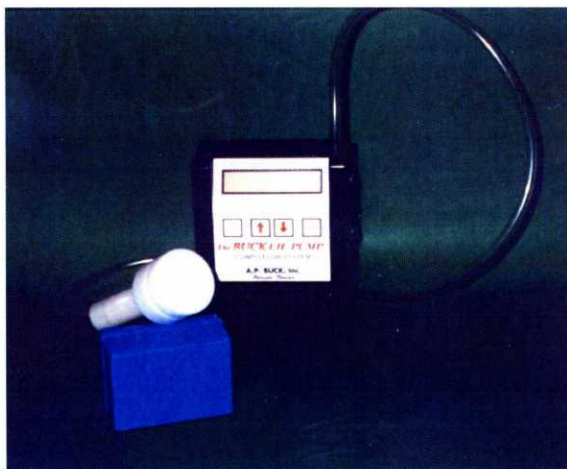


Figura 17. Bomba Buck I.H. con accesorio para recogida de particulado

El protocolo seguido fue el siguiente. Se secaron los filtros a 400°C en un horno mufla durante al menos 8 horas para eliminar la materia orgánica, guardándolos en placas petri en un desecador hasta su utilización.

Antes de realizar el muestreo se pesaron los filtros y después del muestreo se vuelven a pesar permaneciendo a -18°C hasta su análisis. La diferencia de peso indica la masa de particulado recogida.

Se hizo un muestreo a un volumen de 2 mL min⁻¹ durante 3 horas recogándose así un volumen aproximado de 360 L de aire. Una vez realizados todos los muestreos, los filtros que previamente se habían guardado a -18°C se pasan de nuevo a un desecador durante 8 horas, se vuelven a pesar y se someten a un proceso de extracción ácida en horno microondas junto con dos blancos de filtro.

El proceso de extracción ácida de los filtros se llevó a cabo utilizando la energía de microondas como fuente de calentamiento. El proceso seguido fue el siguiente: se deposita el filtro dentro de los reactores de teflón, a continuación se añaden 6 mL de

HCl, 2 mL de HNO₃ y 1 mL de H₂O y se somen al programa de microondas mostrado en la **Tabla 9**.

Una vez finalizado el programa se dejaron enfriar las bombas aproximadamente 1 hora en baño de agua y se filtra (Filtros Whatmann n° 40) el contenido de los reactores a matraces de 25 mL, las muestras digeridas se trasvasan a recipientes de polietileno y se conservan en frigorífico a 4°C hasta su análisis.

4.2. RESULTADOS

En el presente apartado se determinan los metales estudiados hasta ahora en las muestras de particulado atmosférico en ambiente laboral mediante HG-AFS. Para ello se validarán los metodos desarrollados en el capítulo anterior para las muestras de particulado atmosférico, mediante dos materiales de referencia, el 1648 material de referencia de particulado urbano y 1649a material de referencia de polvo urbano. Dichos materiales no se encuentran certificados ni indicados para Bi y Te.

A continuación se muestran los resultados obtenidos para dichos materiales:

Tabla 23. Concentración de As, Sb y Se en materiales de referencia para particulado atmosférico (n=11)

Concentración±SD (mg kg ⁻¹)				
		Valor certificado	Valor obtenido	R (%)
As	1648	115±10	128.8±1.5	112±1.3
	1649a	67±2.0	76.5±0.1	114±0.2
Sb	1648	45*	39.45±0.03	88±0.1
	1649a	29.9±0.7	25.12±0.03	84±0.1
Se	1648	27±1	26.30±0.02	97±0.1
	1649a	25.6±0.7	26.30±0.02	102±0.1

*Valor indicativo

Como se observa en la **Tabla 23**, las recuperaciones obtenidas son aceptables en todos los casos, por lo que los métodos propuestos pueden ser aplicados a muestras de particulado atmosférico.

Se midieron asimismo Bi y Te en los materiales de referencia, siendo los valores encontrados menores del límite de detección. Se han determinado todos los metales en las muestras pero los valores encontrados para el Bi y Te se encuentran por debajo del límite de detección.

A continuación se muestran las rectas de calibrado y adición obtenidas.

Tabla 24. Rectas de calibrado y adición obtenidas para particulado atmosférico

	Calibrado	Adición
As	$I=9.80+0.55[As]$	$I=7.50+0.16[As]$
Bi	$I=0.4+27.5[Bi]$	$I=24.60+22.95[Bi]$
Sb	$I=-13.4+144.6[Sb]$	$I=29.9+152.9[Sb]$
Se	$I=7.60+2.70[Se]$	$I=4.50+3.54[Se]$

Se realizó un test estadístico para comparar la similitud entre las pendientes de calibrado y adición, resultando ser todas significativamente iguales a un nivel de confianza del 95% excepto para el caso del As, para el que no son paralelas.

Tabla 25. LOD y LOQ obtenidos para particulado atmosférico

	LOD/ $\mu\text{g m}^{-3}$	LOQ/ $\mu\text{g m}^{-3}$
As	0.09	0.30
Bi	0.14	0.49
Sb	0.05	0.16
Se	$6.25 \cdot 10^{-3}$	0.02
Te	0.20	0.73

La precisión obtenida (calculada como *RSD* siendo $n=11$ medidas) fue aceptable en todos los casos ($<10\%$).

A continuación se muestran las concentraciones obtenidas en las muestras analizadas.

Tabla 26. Concentración de As, Bi, Sb y Se en particulado atmosférico

	Concentración/ $\mu\text{g m}^{-3}$ ($\pm\text{SD}$)			
	As	Bi	Sb	Se
Muestra 1	0.15 ± 0.01	<0.14	<0.05	0.02 ± 0.01
Muestra 2	<0.09	<0.14	0.05 ± 0.01	<0.006
Muestra 3	0.26 ± 0.02	<0.14	0.05 ± 0.04	<0.006
Muestra 4	0.14 ± 0.02	0.30 ± 0.10	0.15 ± 0.01	<0.006
Muestra 5	0.32 ± 0.02	<0.14	<0.05	0.042 ± 0.001

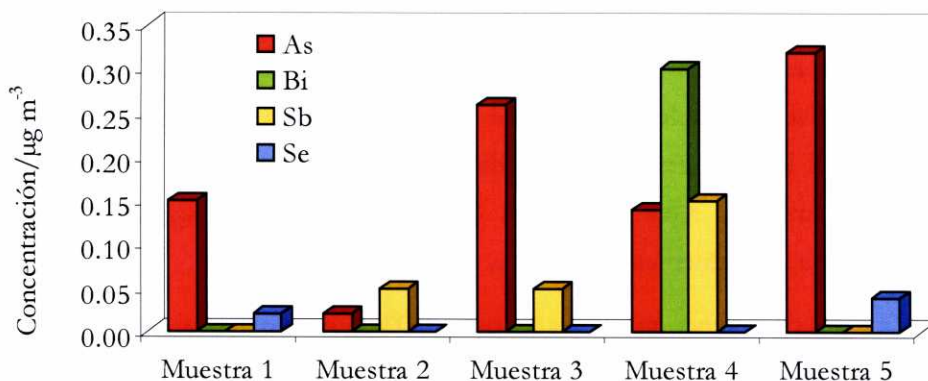


Figura 18. Concentración de As, Bi, Sb y Se en particulado atmosférico

Como se observa en la **Tabla 26** y **Figura 18**, la muestra 4 (estación de autobuses), es la que presenta mayores niveles de todos los metales excepto de Se. Esta muestra es la única que presenta un valor de Bi en particulado de $0.30 \mu\text{g m}^{-3}$, valor bastante superior a los niveles encontrados en aire exterior ($0.0001\text{-}0.0007 \mu\text{g m}^{-3}$) [26] quizás debido a su utilización en las baterías para impulsar automóviles o autobuses. No existe un valor límite de exposición diaria para el Bi, lo que hace si cabe, más interesante la determinación de los niveles del mismo en ambientes laborales.

Como era de esperar, la muestra 2 (obra en construcción) presenta los menores niveles de metales en el particulado atmosférico, siendo el elemento mayoritario el Sb. Dicho elemento varía entre $0.05 \mu\text{g m}^{-3}$ encontrados en la obra y en la estación de ferrocarril y $0.15 \mu\text{g m}^{-3}$ encontrado en la estación de autobuses, valores inferiores a los encontrados en atmósfera industrial ($0.8\text{-}2.9 \mu\text{g m}^{-3}$) por Castillo y col. [27]. Diversos autores han dado valores de Sb en atmósfera urbana de diversas ciudades como Bilbao y Milán ($0.01\text{-}0.02 \mu\text{g m}^{-3}$), siendo éstos inferiores a los valores encontrados en las muestras estudiadas en esta memoria [27-29]. Los valores límite de antimonio para exposición industrial están entre $0.2\text{-}2 \text{ mg m}^{-3}$ de aire, por lo que las muestras estudiadas cumplen dicho valor límite. En Alemania la concentración de antimonio en el lugar de trabajo no puede exceder de 0.5 ng m^{-3} , y para estibina la concentración máxima recomendada es 0.5 mg m^{-3} [2]. El valor límite para la exposición diaria en ambientes laborales es de 0.5 mg m^{-3} .

Los niveles de As encontrados están entre $0.02 \mu\text{g m}^{-3}$ en la obra y $0.32 \mu\text{g m}^{-3}$ en el parking subterráneo, valores similares a los encontrados en áreas urbanas ($0.02 \mu\text{g m}^{-3}$), mientras que en áreas rurales los niveles de As disminuyen a $0.001\text{-}0.01 \mu\text{g m}^{-3}$. Rizzio y col. obtuvieron valores de arsénico en particulado urbano y rural de 0.001 y $0.0005 \mu\text{g m}^{-3}$ respectivamente en la ciudad de Milán [29], mientras que Harrison y Jones determinaron As entre los años 1986-1989 en el Reino Unido, encontrando valores en atmósfera urbana y rural de 0.002 y $0.001 \mu\text{g m}^{-3}$ respectivamente [30].

Cerca de fundiciones o fábricas que queman carbón, los niveles pueden superar $1 \mu\text{g m}^{-3}$ o más [2]. Los valores límites de exposición diaria para el As son 0.1 mg m^{-3} como arsénico elemental, $0.05 \text{ ppm}/0.16 \text{ mg m}^{-3}$ como arsenamina y 0.15 mg m^{-3} como arseniato de Pb, siendo estos valores límite superiores a los encontrados en nuestro caso.

Solamente dos muestras ofrecen valores de Se superiores al límite de detección, $0.02 \mu\text{g m}^{-3}$ en el taller mecánico y $0.04 \mu\text{g m}^{-3}$ en el parking subterráneo valores inferiores al TLV recomendado por la ACGIH (1980) para lugares de trabajo de $200 \mu\text{g m}^{-3}$. Sin embargo, estos valores son mayores que las concentraciones normales de selenio en atmósfera urbana y rural de 0.003 y $0.001 \mu\text{g m}^{-3}$ respectivamente reflejadas en la bibliografía [2], así como de las encontradas por Harrison y Jones en el Reino Unido de 0.002 y $0.0009 \mu\text{g m}^{-3}$. [30].

5. BIBLIOGRAFÍA

- [1] J.M. Azcue, 'Contaminación por efecto de la actividad humana', en: *Metales en sistemas biológicos*, A. Mas; J.M. Azcue (Eds.), Promociones y publicaciones universitarias, Barcelona, 1993.
- [2] E. Merian, *Metals and their compounds in the environmental: Occurrence, analysis and biological relevance*, Weinheim VCH, Germany, 1991.
- [3] P.J. Peterson, C.A. Girling, L.M. Benson, R. Zieve, 'Metalloids', en: *Effect of Heavy Metal Pollution on Plants*, N.W. Lepp (Eds.), Applied Science Publishers, London, 1981.
- [4] H. Huang, P.K. Dasgupta, 'A field-deployable instrument for the measurement and speciation of arsenic in potable water', *Analytica Chimica Acta*, 380 (1999) 27-37.
- [5] P.N. Fedorov, G.N. Ryabchuk, A.V. Zverev, 'Comparison of hydride generation and graphite furnace atomic absorption spectrometry for the determination of arsenic in food', *Spectrochimica Acta*, 52B (1997) 1517-1523.
- [6] G. Tao, Z. Fang, 'Determination of trace and ultra-trace amounts of germanium in environmental samples by preconcentration in a graphite furnace using a flow injection hydride generation technique', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 8 (1993) 577-584.
- [7] J.E. Fergusson, *The heavy elements: chemistry, environmental impact and health effects*, Pergamon Press, Oxford, 1990.
- [8] Y. He, H. El Azouzi, M.L. Cervera, M. de la Guardia, 'Completely integrated on-line determination of dissolved selenium (IV) and total inorganic selenium in sea-water by flow injection hydride generation atomic fluorescence spectrometry', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 13 (1998) 1291-1296.
- [9] Y. He, J. Moreda-Piñeiro, M.L. Cervera, M. de la Guardia, 'Direct determination of dissolved selenium (IV) and selenium (VI) in sea-water by continuous flow hydride generation atomic fluorescence spectrometry', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 13 (1998) 289-293.
- [10] J.C. Miller, J.N. Miller, *Estadística para Química Analítica*, Addison-Wesley, Iberoamericana USA, 1993.

- [11] J.-b. Shi, Z.-y. Tang, Z.-x. Jin, Q. Chi, B. He, G.-b. Jiang, 'Determination of As(III) and As(V) in soils using sequential extraction combined with flow injection hydride generation atomic fluorescence detection', *Analytica Chimica Acta*, 477 (2003) 139-147.
- [12] A.K. Das, R. Chakraborty, M. de la Guardia, M.L. Cervera, D. Goswami, 'TCP-MS multielement determination in fly ash after microwave-assisted digestion of samples', *Talanta*, 54 (2001) 975-981.
- [13] B. He, L. Liang, G. Jiang, 'Distributions of arsenic and selenium in selected Chinese coal mines', *The Science of the Total Environment*, 296 (2002) 19-26.
- [14] J.R. Castillo, J. Lanaja, J. Aznárez, 'Determination of germanium in coal ashes by hydride generation and flame atomic-absorption spectrophotometry', *The Analyst*, 107 (1982) 89-95.
- [15] A. Iordanidis, A. Georgakopoulos, A. Filippidis, A. Kassoli-Fournaraki, 'A correlation study of trace elements in lignite and fly ash generated in a power station', *International Journal Environmental Analytical Chemistry*, 79 (2001) 133-141.
- [16] J.W. Kaakinen, R.M. Jorden, M.H. Lawasani, R.E. West, 'Trace element behaviour in coal fired power plant', *Environmental Science and Technology*, 24 (1975) 1811-1818.
- [17] D.H. Klein, A.W. Andren, J.A. Carter, J.F. Emery, C. Feldman, W. Fulkerson, W.S. Lyon, J.C. Ogle, Y. Talmi, N. Bolton, 'Pathways of thirty seven trace elements through coal fired power plants', *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 332 (1975) 973-979.
- [18] L.B. Clarke, L.L. Sloss, *Trace element emissions from coal combustion and gasification*, London, 1992.
- [19] ASTM D 2013-86, *Standard method of preparing coal samples for analysis*, Ed. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, USA, 1986.
- [20] ASTM D 2234-89, *Standard test methods for collection of a gross sample of coal*, Ed. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, USA, 1989.
- [21] S. Ringmann, K. Boch, W. Marquardt, M. Schuster, G. Schlemmer, P. Kainrath, 'Microwave-assisted digestion of organoarsenic compounds for the determination of total arsenic in aqueous, biological, and sediment samples using flow injection hydride generation electrothermal atomic absorption spectrometry', *Analytica Chimica Acta*, 452 (2002) 207-215.

- [22] M. Deaker, W. Maher, 'Determination of arsenic in arsenic compounds and marine biological tissues using low volume microwave digestion and electrothermal atomic absorption spectrometry', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 14 (1999) 1193-1207.
- [23] Z. Mester, M. Angelone, C. Brunori, C. Cremisini, H. Muntau, R. Morabito, 'Digestion methods for analysis of fly ash samples by atomic absorption spectrometry', *Analytica Chimica Acta*, 395 (1999) 157-163.
- [24] J.M. López Vilariño, *Tesis Doctoral: Caracterización de elementos traza en carbones y productos de combustión*, Departamento de Química Analítica, Universidad de A Coruña, A Coruña, 2001.
- [25] B. Markert, *Environmental Sampling for Trace Analysis*, VCH, Weinheim, 1994.
- [26] K. De Doncker, R. Dumarey, R. Dams, J. Hoste, 'Determination of bismuth in atmospheric particulate matter by hydride generation and atomic absorption spectrometry', *Analytica Chimica Acta*, 161 (1984) 365-368.
- [27] J.R. Castillo, J. Lanaja, M^a.C. Martínez, J. Aznárez, 'Flame atomic-absorption spectroscopic determination of antimony in atmospheric particulates by using direct atomisation of the covalent hydride', *The Analyst*, 107 (1982) 1488-1492.
- [28] M.E. Moreno, C. Pérez-Conde, C. Cámara, 'Sensitization of stibine generation: antimony determination in environmental samples by atomic fluorescence spectrometry', *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 13 (1998) 1181-1187.
- [29] E. Rizzio, G. Giaveri, M. Gallorini, 'Some analytical problems encountered for trace elements determination in the airborne particulate matter of urban and rural areas', *The Science of the Total Environment*, 256 (2000) 11-22.
- [30] R.M. Harrison, M. Jones, 'The chemical composition of airborne particles in the UK atmosphere', *The Science of the Total Environment*, 168 (1995) 195-214.

Capítulo 6

**Estudio comparativo de los métodos de
análisis propuestos**

1. ANÁLISIS DE MATERIALES DE REFERENCIA	317
2. ANÁLISIS DE MUESTRAS.....	321

En los capítulos 3 y 4 de la presente memoria, se proponen métodos de análisis de metales formadores de vapor mediante dos técnicas de análisis distintas, la espectroscopía de absorción y de fluorescencia atómica respectivamente.

A priori, se ha comprobado que ambas técnicas son válidas para la determinación de metales en distintas muestras medioambientales, por ello, en este capítulo se comparan los métodos desarrollados por ambas técnicas, con el fin de seleccionar el más adecuado. Para realizar la comparación, se analizarán distintos materiales de referencia y muestras de agua de mar y termal, así como muestras de carbones, cenizas, escorias y coques. Finalmente, se expondrán las ventajas e inconvenientes de cada método de análisis.

Estos estudios se realizan con As y Bi, debido a que son los únicos metales estudiados en esta memoria por ambas técnicas (absorción y fluorescencia atómica).

1. ANÁLISIS DE MATERIALES DE REFERENCIA

A continuación (**Tabla 1**), se presentan las concentraciones de As y Bi obtenidas en el análisis de distintos materiales de referencia mediante HG-ETAAS y HG-AFS.

Tabla 1. Concentración de As y Bi para materiales certificados (n=11)

Elemento		Valor certificado	HG-ETAAS		HG-AFS	
			Valor obtenido	R(%)	Valor obtenido	R(%)
As	CASS-3 ^a	1.09±0.07	1.17±0.02	107±1.8	1.18±0.01	108±0.6
	TM-24 ^a	2.5*	2.9±0.1	116±4.0	3.0±0.13	120±5.2
Bi	GBW 07401 ^b	1.2±0.2	1.0±0.01	83±0.8	1.3±0.20	108±16.6
	1632c ^b	0.1*	0.1±0.01	100±10	0.09±0.01	90±10.0

* Valor informativo

^aConcentración en µg L⁻¹ (±SD)

^bConcentración en µg g⁻¹ (±SD)

En la **Tabla 1** se observa que los resultados obtenidos para todos los materiales de referencia certificados son adecuados utilizando ambos métodos de análisis. Para los materiales en los que el contenido de metal está indicado también se obtuvieron buenos resultados por ambos métodos.

Con el objetivo de facilitar la comprensión de estos resultados, se representan en la **Figura 1** los valores medios e intervalos de confianza proporcionados por los materiales de referencia (método 1), así como los obtenidos mediante HG-ETAAS y HG-AFS (métodos 2 y 3 respectivamente).

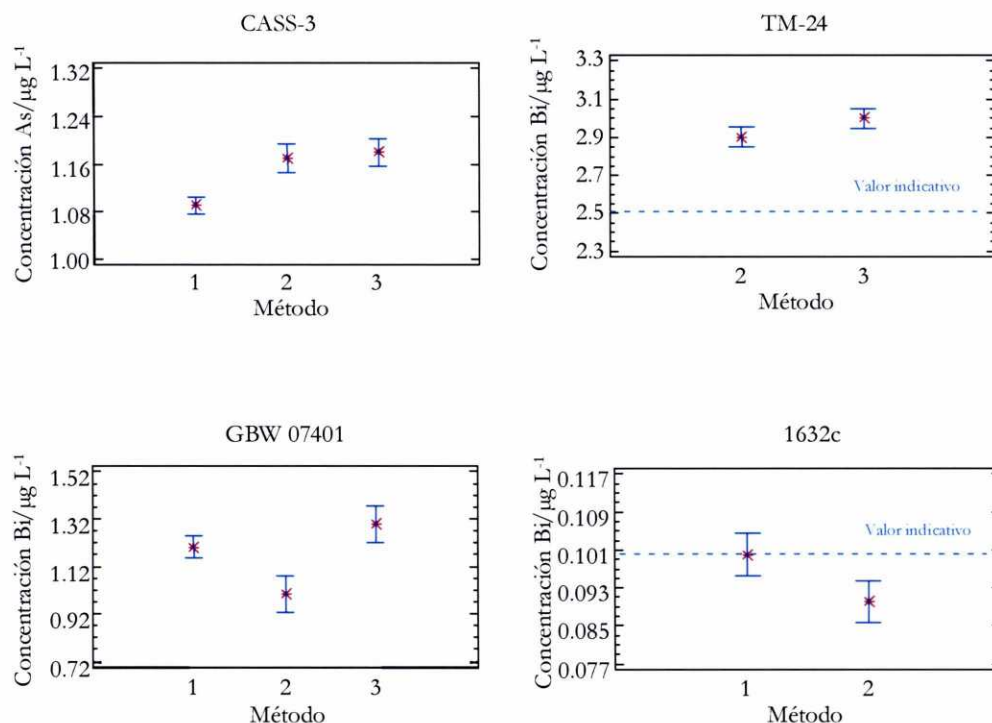


Figura 1. Valores medios e intervalos de confianza para los materiales de referencia obtenidos por el material certificado (1), HG-ETAAS (2) y HG-AFS (3)

Para el carbón 1632c se obtiene un valor medio mayor con el método HG-ETAAS, englobando además el valor indicativo del material de referencia.

Para el agua CASS-3, los valores experimentales obtenidos no engloban el valor certificado ni se solapan los intervalos de confianza, aunque se obtuvieron buenas recuperaciones en ambos métodos (**Tabla 1**).

Pese a las buenas recuperaciones obtenidas, se comprobó la exactitud del método utilizando un test t de comparación de las medias. Tomamos como hipótesis nula que las dos medias son iguales significativamente, por lo tanto necesitamos comprobar si $(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)$ difiere en forma significativa de cero. Si las dos muestras tienen desviaciones estándar que no sean significativamente diferentes, se puede calcular una estimación conjunta de la desviación estándar a partir de las dos desviaciones individuales S_1 y S_2 utilizando la ecuación:

$$S_{\text{combinada}} = \sqrt{\frac{S_1^2(n_1 - 1) + S_2^2(n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}}$$

De esta forma se calcula la t de Student experimental dada por:

$$t = \frac{X_1 - X_2}{S_{\text{combinada}}} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}}$$

donde X_1 y X_2 son los valores de la concentración de analito certificado y obtenido respectivamente y t tiene $(n_1 + n_2 - 2)$ grados de libertad. El valor de $t_{\text{calculado}}$ para el material de referencia GBW 07401 medido por HG-AFS es 1.41 que se compara con un valor de $t_{\text{crítico}} = 2.04$. El valor experimental es menor que el crítico

por lo que se puede afirmar que no existen diferencias significativas entre los valores de concentración a un nivel de confianza del 95%. Para ese material medido mediante HG-ETAAS y para el material CASS-3, el valor de $t_{\text{calculado}}$ es mayor que el valor de $t_{\text{crítico}}$, por lo que se puede decir que las medias no son significativamente iguales para un nivel de confianza del 95%.

La exactitud de los materiales de referencia que no ofrecen un valor certificado sino indicativo, se comprobó mediante un test de comparación de medias, pero en este caso el valor de la t de Student se calcula mediante la fórmula

$$t = \frac{|X - \mu|}{S} \times \sqrt{n}$$

donde X es el valor obtenido, μ es el valor certificado, S es la desviación estándar del valor obtenido y n es el tamaño muestral. Si la $t_{\text{calculada}}$ es mayor que la $t_{\text{crítica}}$ la diferencia entre concentraciones será significativa.

Para el material de referencia TM-24 las medias obtenidas por ambos métodos resultaron ser significativamente distintas, debido a que el valor de $t_{\text{calculado}}$ es mayor que el valor de $t_{\text{crítico}}$, mientras que para el carbón 1632c el valor obtenido mediante HG-ETAAS es significativamente igual al valor indicativo del material, no sucediendo lo mismo para el valor medido mediante HG-AFS.

2. ANÁLISIS DE MUESTRAS

A la vista de los análisis anteriores, se observa una concordancia entre los resultados obtenidos por HG-ETAAS y HG-AFS, por lo que se decide ampliar el estudio a distintas muestras de interés medioambiental tanto líquidas como sólidas con el fin de evaluar la aplicabilidad de los métodos estudiados a dichas muestras.

Para realizar la comparación de los resultados de las muestras, se construye una recta de regresión para los resultados de cada matriz. Si ambos métodos condujesen al mismo resultado para una misma muestra, la regresión tendría una pendiente y un coeficiente de correlación igual a la unidad, así como una ordenada en el origen nula.

También se realizan una serie de test estadísticos para comparar los datos tomados por parejas. Se comparan en primer lugar las desviaciones estándar obtenidas mediante diversos test estadísticos (test de Cochran, test de Bartlett y test de Hartley) y a continuación los valores medios de concentración mediante un test ANOVA el cual nos dirá si existen o no diferencias significativas entre ellas.

En la **Tabla 2** se recogen los valores de As obtenidos para 4 muestras de agua de mar y 4 muestras de agua termal. En el caso de agua de mar se obtienen valores muy similares que oscilan entre 1.0 y 2.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para el método HG-ETAAS y entre 0.98 y 1.7 $\mu\text{g L}^{-1}$ para el método HG-AFS. Para el Bi, debido a la menor sensibilidad obtenida con el método HG-ETAAS y las bajas concentraciones de dicho metal para muestras acuosas, no se realizó este estudio comparativo, si bien se puede afirmar que el método HG-AFS se considera el más adecuado para la determinación de dicho metal en muestras de agua de mar y agua termal.

Tabla 2. Concentración de As (\pm SD) en muestras de agua de mar y agua termal mediante HG-ETAAS y HG-AFS

		HG-ETAAS	HG-AFS
Agua mar	Muestra 1	2.02 \pm 0.01	1.18 \pm 0.06
	Muestra 2	1.06 \pm 0.05	1.06 \pm 0.01
	Muestra 3	1.00 \pm 0.04	0.984 \pm 0.006
	Muestra 4	1.10 \pm 0.06	1.69 \pm 0.01
Agua termal	Muestra 1	3.17 \pm 0.06	4.41 \pm 0.04
	Muestra 2	4.02 \pm 0.05	4.328 \pm 0.005
	Muestra 3	1.52 \pm 0.01	2.37 \pm 0.01
	Muestra 4	10.10 \pm 0.01	6.72 \pm 0.14

Al construir la recta de regresión para las muestras de agua de mar medidas por HG-ETAAS frente a HG-AFS, se obtuvo un valor malo para la correlación que se vio mejorado al eliminar el valor anómalo de la muestra 4 ($r=0.941995$). Pese a esto, mediante un ANOVA se comprobó estadísticamente que la pendiente no coincide con la unidad, ($P_{\text{exp}}=0.2179 > P_{\text{crítico}}=0.10$ al aplicar el test F). A continuación se desarrollan los test estadísticos anteriormente señalados para comprobar la existencia o no de diferencias significativas entre las desviaciones estándar y las medias de los conjuntos de datos tomados como parejas (test de Cochran, test de Bartlett, test de Hartley y ANOVA). Se comprueba que no existen diferencias significativas entre los dos conjuntos de datos considerados como parejas (ni entre las desviaciones estándar ni entre las medias) para ningún par de muestras excepto para la muestra 4 en las que las medias resultaron ser significativamente diferentes. Se establece, por lo tanto, que la diferencia de las medias entre ambas series de datos es igual a cero (nivel de confianza 95%).

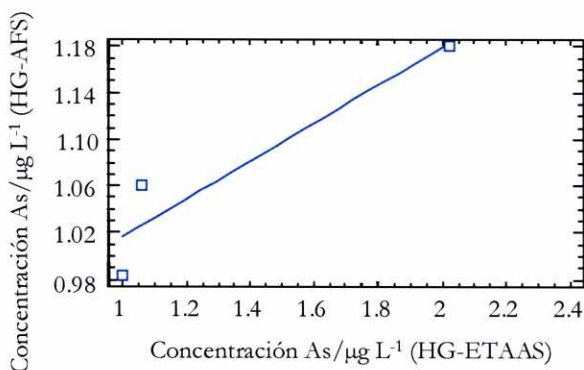


Figura 2. Regresión para la concentración de As en las muestras de agua de mar analizadas por HG-ETAAS y HG-AFS

Para las muestras de agua termal los valores oscilan entre 1.5 y 10.1 $\mu\text{g L}^{-1}$ para HG-ETAAS y 2.4 y 6.7 $\mu\text{g L}^{-1}$ para las muestras medidas mediante HG-AFS. Al establecer la regresión para dichos datos (**Figura 3**), se obtiene un buen índice de correlación ($r=0.95138$). Asimismo, estadísticamente se comprobó que la ordenada en el origen coincide con cero y la pendiente con uno, ya que el valor de la $P_{\text{exp}}=0.048$ es menor que $P_{\text{crítico}}=0.05$, por lo que los dos grupos de muestras se encuentran relacionados para un nivel de confianza del 95%. Se compararon estadísticamente las desviaciones y las medias de las muestras por parejas, no encontrándose diferencias significativas entre las desviaciones y sí entre las medias.

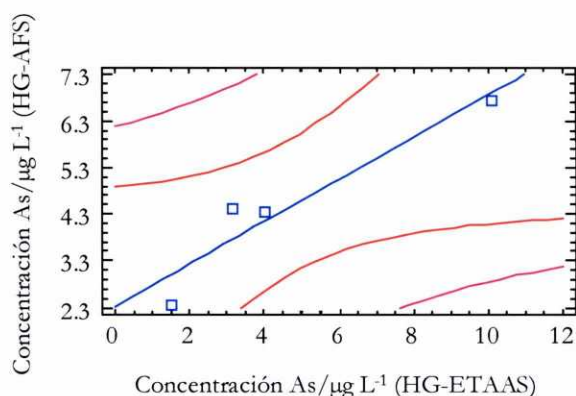


Figura 3. Regresión para la concentración de As en las muestras de agua termal analizadas por HG-ETAAS y HG-AFS

A la vista de los resultados anteriores, se concluye que ambos métodos conducen al mismo resultado para la determinación de As en muestras acuosas, aunque sería necesario analizar un mayor número de muestras para concluir que esta afirmación es realmente válida. De esta forma se evitaría que posibles resultados anómalos nos lleven a obtener falsos resultados.

A continuación se analizó el contenido de As y Bi en cuatro muestras de carbones y cenizas obteniéndose los resultados de la **Tabla 3**.

Tabla 3. Concentración de As y Bi (\pm SD) en muestras de carbones y cenizas mediante HG-ETAAS y HG-AFS

		HG-ETAAS		HG-AFS	
		As	Bi	As	Bi
Carbón	Muestra 1	90.05 \pm 0.03	2.00 \pm 0.30	113.50 \pm 1.10	1.90 \pm 0.05
	Muestra 3	65.30 \pm 0.01	1.55 \pm 0.38	41.40 \pm 0.25	2.10 \pm 0.05
	Muestra 4	76.40 \pm 0.07	1.15 \pm 0.05	108.57 \pm 1.02	1.30 \pm 0.01
	Muestra 5	78.80 \pm 0.17	0.73 \pm 0.01	109.64 \pm 1.40	0.93 \pm 0.20
Ceniza	Muestra 1	2187 \pm 0.03	11.87 \pm 0.07	656.7 \pm 1.7	4.62 \pm 0.13
	Muestra 2	2253 \pm 0.20	12.50 \pm 0.02	778.1 \pm 0.5	1.08 \pm 0.04
	Muestra 3	2031 \pm 0.03	11.87 \pm 0.03	190.8 \pm 2.5	5.11 \pm 0.08
	Muestra 4	2414 \pm 0.05	14.68 \pm 0.05	546.0 \pm 3.5	5.07 \pm 0.08

Los valores obtenidos para As oscilan entre 65.30 y 90.05 $\mu\text{g g}^{-1}$ para el método HG-ETAAS y 41.40-113.50 $\mu\text{g g}^{-1}$ para el método HG-AFS. Al realizar la regresión se obtuvo un bajo índice de correlación ($r=0.84486$) que se vio mejorado suprimiendo el valor anómalo de la muestra 3. Así, se obtuvo una buena correlación ($r=0.999102$) y se comprobó que existe una relación estadísticamente significativa entre ambos grupos de muestras (**Figura 4**) debido a que el valor de $P_{\text{exp}}=0.027$ del test ANOVA es menor que el $P_{\text{crítico}}=0.05$. Tomando los datos por parejas se observan valores de As ligeramente superiores mediante HG-AFS que mediante HG-ETAAS, los cuales no pueden considerarse significativamente iguales para un 95% de confianza.

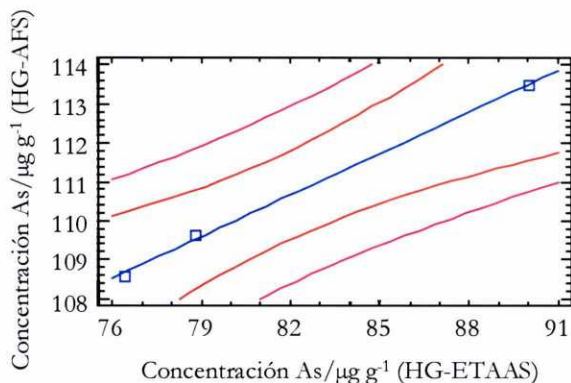


Figura 4. Regresión para la concentración de As en las muestras de carbones analizadas por HG-ETAAS y HG-AFS

Para el Bi, los valores encontrados oscilan entre 0.73 y 2.00 $\mu\text{g g}^{-1}$ para el método HG-ETAAS y 0.93 y 2.10 para el método HG-AFS. Al realizar la regresión de nuevo se obtuvo un bajo valor del índice de correlación ($r=0.877758$) que se vio mejorado eliminando el valor anómalo de la muestra 3, de la misma forma que sucedió para el As, obteniéndose en este caso una $r=0.998376$ (**Figura 5**). Estadísticamente se comprobó que los dos grupos de muestras están relacionados debido a que $P_{\text{exp}}=0.0363$ es menor que la $P_{\text{crítica}}=0.05$. Tras la realización de los test estadísticos para ver si existen diferencias entre las muestras tomadas como parejas se comprobó que no existen diferencias significativas para un nivel de confianza del 95%.

Tal y como se había concluido del estudio de correlación, se puede considerar que la determinación de As y Bi en muestras de carbones se puede llevar a cabo por los dos métodos propuestos, si bien, de nuevo sería necesario analizar un mayor número de muestras para confirmar esta conclusión.

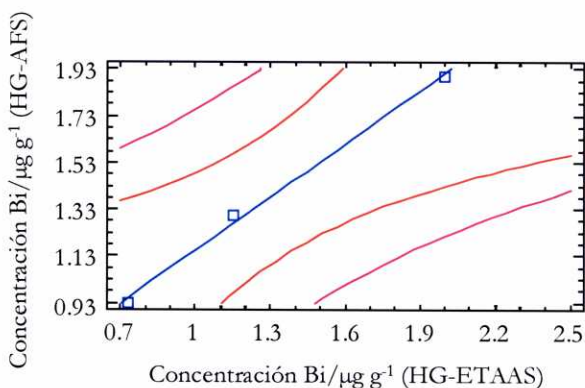


Figura 5. Regresión para la concentración de Bi en las muestras de carbones analizadas por HG-ETAAS y HG-AFS

En el análisis de las cenizas, los valores de As obtenidos mediante HG-ETAAS oscilaron entre 2031 y 2414 $\mu\text{g g}^{-1}$, mientras que los obtenidos por HG-AFS oscilaron entre 190.8 y 778.1 $\mu\text{g g}^{-1}$. Para el Bi, los valores en cenizas oscilan entre 11.87 y 14.68 para el método de absorción atómica y entre 1.08 y 5.11 para el método de fluorescencia atómica. Cabe recordar que en el caso de las cenizas se han utilizado muestras diferentes, así, aunque existe una relación entre el contenido de As y Bi entre las muestras por ambos métodos, no se considera correcto aplicar un análisis de correlación debido a las grandes diferencias existentes entre ellas.

Para las muestras de escoria estudiadas (**Tabla 4**), los valores de As oscilaron entre 1.09 y 6.25 $\mu\text{g g}^{-1}$ para el método de HG-ETAAS y 3.54 y 24.70 $\mu\text{g g}^{-1}$ para el método de HG-AFS. La regresión obtenida para los dos grupos de muestras muestra un índice de correlación de $r=0.976192$ (**Figura 6**), y se comprueba estadísticamente que existe una relación entre ambos grupos de muestras debido a que el valor de $P_{\text{exp}}=0.0238$ es menor que el valor de $P_{\text{crítico}}=0.05$. Estadísticamente, los valores medios difieren significativamente para un 95% de confianza.

Para el Bi, todas las muestras estudiadas presentaron concentraciones por debajo del límite de detección, por lo que este análisis resultó inviable.

Tabla 4. Concentración de As (\pm SD) en muestras de escorias mediante HG-ETAAS y HG-AFS

	HG-ETAAS	HG-AFS
Muestra 2	24.70 \pm 0.01	6.25 \pm 0.06
Muestra 3	12.44 \pm 0.03	3.61 \pm 0.19
Muestra 4	3.54 \pm 0.02	1.85 \pm 0.05
Muestra 5	5.32 \pm 0.01	1.09 \pm 0.01

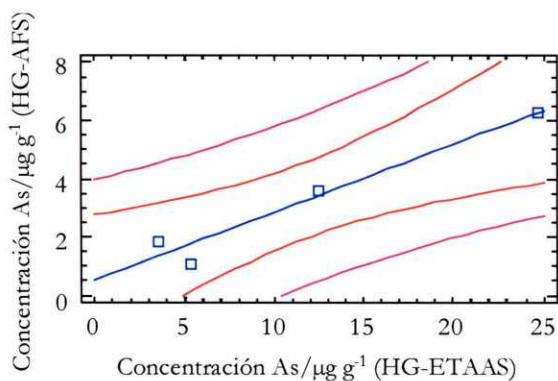


Figura 6. Regresión para la concentración de As en las muestras de escorias analizadas por HG-ETAAS y HG-AFS

Para las muestras de coque no se pudo realizar este análisis debido a que sólo dos muestras de As dieron valores por encima del límite de detección y en ninguna de las muestras analizadas se detectó Bi.

A la vista de los resultados anteriores, se puede decir que ambos métodos proporcionaron resultados similares para las muestras estudiadas, es decir, ambos serían válidos para la determinación de metales en muestras de interés ambiental. A continuación se resumen las principales características de cada método propuesto con el objetivo de ayudarnos a seleccionar el método más adecuado (**Tabla 5**).

Tabla 5. Características de los métodos analíticos desarrollados

	HG-ETAAS	HG-AFS
Concentración medio ácido	0.5-5M HCl	1.5-4.8M HCl
Concentración reductor	0.5-2% NaBH ₄	0.7-1% NaBH ₄
Automatización y robustez	Si, separador de membrana poco robusto	Si, equipo compacto y muy robusto
Sistema de atomización	Tubo de grafito recubierto con disoluciones atrapantes. Duración del tubo limitada	Llama de difusión de hidrógeno. Mayor vida útil
LOD	0.12-2.39 µg L ⁻¹	Se alcanzan niveles de ng L ⁻¹
RSD	< 15%	<10 %
Interferencias	No	No
Tiempo de análisis total	50-60 s	70-90 s
Consumo HCl y NaBH ₄ /Producción de residuos	Alto	Muy alto
Consumo muestra	Bajo (µL)	Muy alto (mL)

Al analizar las ventajas e inconvenientes que presentan los dos métodos de análisis estudiados, observamos que la determinación mediante HG-ETAAS ofrece un menor tiempo de análisis total, lo que se traduce en un menor consumo de reactivos ya que las concentraciones necesarias para el análisis son prácticamente iguales por los dos métodos estudiados. Como inconveniente, se puede considerar la utilización de tubos de grafito como sistemas de atomización, que implica un coste adicional, ya que dichos tubos tienen una vida útil de aproximadamente 400 ciclos de medida y es necesario recubrirlos con disoluciones atrapantes para una mayor efectividad.

Sin embargo, la determinación mediante HG-AFS presenta mejores límites de detección (a niveles de ng L^{-1}); una mejor precisión; el coste debido al sistema de atomización (llama de difusión de hidrógeno) es bajo y además la robustez del sistema continuo de generación utilizado implica una menor manipulación por parte del analista.

Por todo ello, el método de generación de hidruros mediante espectroscopía de fluorescencia atómica se considera el método más apropiado para la determinación de los metales formadores de vapor en muestras de interés ambiental.

Capítulo 7

Conclusiones y líneas futuras

1. CONCLUSIONES	335
2. LÍNEAS FUTURAS.....	337

1. CONCLUSIONES

En el presente capítulo se exponen, de forma resumida, las conclusiones más destacables del trabajo presentado en esta memoria:

- Se consigue la optimización de un método analítico para la determinación de arsénico inorgánico total (As (III) y As(V)), Bi y Ge mediante generación de hidruros acoplada a espectroscopía de absorción atómica con atomización electrotérmica (HG-ETAAS). Para la optimización de dichos métodos se utilizaron diseños de experiencias de Plackett-Burman con el fin de determinar las variables significativas, que resultaron ser para el As(V) el caudal de NaBH_4 y la longitud del bucle de reacción; para el Bi la concentración de NaBH_4 y el tiempo de atrapamiento y para el Ge las temperaturas de atrapamiento y atomización. Para el As(III) ninguna variable resultó ser significativa. Estas variables fueron optimizadas mediante diseños centrados. Los métodos fueron validados con éxito mediante diferentes materiales de referencia.
- Con el fin de aumentar la eficiencia del atrapamiento se realizó un estudio de distintos recubrimientos permanentes (Ir, Zr, U, La, Nb, W, BeO , Cr_2O_3 , Cr_3C_2 , TaC, VC y Ta) para la preconcentración y atomización en tubos de grafito de los hidruros de As, Bi y Ge generados, con el fin de elegir el recubrimiento adecuado para cada metal. Los resultados obtenidos se compararon con la utilización de tubos de grafito no recubiertos con especies refractarias. Se estudiaron temperaturas de atrapamiento y atomización y tiempos de atrapamiento para cada recubrimiento, así como su precisión y exactitud, concluyéndose que el mejor resultado se obtiene con el recubrimiento de Zr para el hidruro de As y Ge y con el recubrimiento de U para el hidruro de Bi.
- Se optimiza un método analítico, para la determinación de As, Bi, Sb, Se y Te, mediante generación de hidruros acoplada a espectroscopía de fluorescencia atómica (HG-AFS), utilizando para ello diseños factoriales de Plackett-Burman y

diseños composicionales centrados. Las variables significativas para el As inorgánico total resultaron ser concentración y caudal de NaBH_4 y tiempo de análisis, para el Bi caudal de NaBH_4 y tiempo de memoria, para el Sb la concentración de HCl, para el Se concentración de HCl y caudal de NaBH_4 y finalmente para el Te la concentración y caudal de NaBH_4 . Se comprobó la exactitud de los métodos mediante materiales de referencia tanto líquidos como sólidos.

- Se comprobó que en el método propuesto para As se consigue la generación completa de la arsina desde los estados de oxidación III y V (determinación de arsénico inorgánico total). Por este motivo, se desarrolló un método de determinación de As(III) mediante generación selectiva de esta especie utilizando concentraciones moderadas del medio ácido y del medio reductor. Las variables significativas resultaron ser la concentración de HCl y la concentración y caudal de NaBH_4 .
- Además, se desarrollaron métodos de determinación de arsénico inorgánico total y antimonio inorgánico total que implican el uso de agentes reductores (KI) previa a la etapa de generación con borohidruro sódico. En el caso del As, se comparó este método con el desarrollado sin el uso de agentes reductores, obteniéndose con este último método mejores resultados. Todos los métodos fueron validados mediante materiales de referencia.
- Los métodos optimizados mediante HG-ETAAS y HG-AFS, fueron aplicados a distintas matrices de interés ambiental como muestras de agua de mar y termal, materias primas y productos de combustión, así como muestras de particulado atmosférico recogidas en ambientes interiores.
- Comparando los métodos desarrollados se concluye que el análisis de metales formadores de vapor mediante HG-AFS es el más adecuado. Esto se debe a los bajos límites de detección, buena precisión y exactitud y su simplicidad a la hora de realizar los análisis.

2. LÍNEAS FUTURAS

Para finalizar esta memoria, se exponen las actividades que se seguirán en un futuro en esta línea de investigación.

- En primer lugar, se aplicarán los métodos de determinación de As, Bi, Se, Sb y Te desarrollados mediante HG-AFS a muestras de agua de mar tomadas a lo largo de la costa gallega a varios niveles de profundidad.
- En segundo lugar, se aplicarán los mismos métodos desarrollados a muestras de particulado atmosférico urbano y rural de la provincia de A Coruña. Los valores obtenidos se compararán con los mostrados en esta memoria para el caso de atmósfera interior.
- A continuación, se optimizarán métodos de determinación de metales formadores de vapor mediante HG-AFS en distintas muestras con alto contenido en materia orgánica como son los productos marinos.
- Por último, se optimizarán métodos analíticos para la especiación de As, Sb y Se utilizando para ello la cromatografías líquida de alta resolución acoplada a espectroscopía de fluorescencia atómica. Dichos métodos se aplicarán a distintas muestras de interés ambiental.

Esta Tesis fue defendida el 9-04-03
ante el tribunal constituido por:

Presidente: José Antonio Rodríguez Vázquez

Vocales: Pilar Benítez Barrera

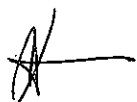
Carmen Cámara Rica

Soledad Muniategui Lencero

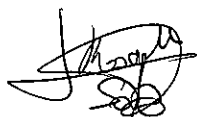
Secretario: Rosa M^{te} Soto Ferreira

Con la calificación de SOBRESALIENTE

CUM LAUDE



CARMEN CÁMARA



UNIVERSIDADE DA CORUÑA
Servicio de Bibliotecas



1700757484